






AK

**IMMUNOTHERAPEUTICS FOR CANCER**

**Patent number:** WO03030938  
**Publication date:** 2003-04-17  
**Inventor:** YAGITA AKIKUNI (JP)  
**Applicant:** ORIENT CANCER THERARY CO LTD (JP); YAGITA AKIKUNI (JP)  
**Classification:**  
- **International:** A61K45/00; A61P35/00; G01N33/50; G06F17/30; A61K31/715; A61K35/60  
- **European:** A61K31/00; A61K35/60; A61K49/00H6; G01N33/50D2B; G01N33/68F  
**Application number:** WO2002JP10446 20021008  
**Priority number(s):** JP20010312051 20011009; JP20010341116 20011106; JP20020062373 20020307; JP20020139004 20020514

**Cited documents:**

 WO0170251  
 EP0844002  
 JP2001033460  
 JP10147534  
 JP2001048795  
more >>

**Report a data error here****Abstract of WO03030938**

It is intended to provide a novel means for a novel immunotherapy under paying attention to the effects of activating NK cells, activating NKT cells, inhibiting angiogenesis, inducing IL-12 production and inducing IFNgamma production. More specifically speaking, a novel use of immunotherapeutics for cancer characterized by comprising, to treat cancer depending on tissue and/or tissue type, classifying the treatment mechanisms at least into: 1 an effect of inhibiting angiogenesis 2 an effect of inducing Th1 cytokines TNFalpha, IFNgamma and IL-12 and activating CTL 3 increasing NK cells or activating the same and 4 increasing NKT cells or activating the same, then measuring markers corresponding to respective effects, analyzing the measurement data depending on cancer tissue and/or tissue type, and thus selecting a prescription appropriate for the cancer tissue and/or tissue type.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 4 月 17 日 (17.04.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/030938 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 45/00, A61P 35/00, G01N 33/50, G06F 17/30 // A61K 31/715, 35/60
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/10446
- (22) 国際出願日: 2002 年 10 月 8 日 (08.10.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2001-312051 2001 年 10 月 9 日 (09.10.2001) JP  
特願2001-341116 2001 年 11 月 6 日 (06.11.2001) JP  
特願2002-62373 2002 年 3 月 7 日 (07.03.2002) JP  
特願2002-139004 2002 年 5 月 14 日 (14.05.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社  
オリエントキャンサーセラピー (ORIENT CANCER  
THERARY CO.,LTD.) [JP/JP]; 〒181-0015 東京都 三鷹  
市 大沢 1 丁目 1 番 2 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 八木田 旭邦  
(YAGITA, Akikuni) [JP/JP]; 〒181-0015 東京都 三鷹市  
大沢 1 丁目 1 番 2 1 号 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 庄司 隆 (SHOJI, Takashi); 〒101-0032 東京都  
千代田区岩本町 3 丁目 2 番 1 0 号 SN岩本町ビル  
6 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,

[続葉有]

(54) Title: IMMUNOTHERAPEUTICS FOR CANCER

(54) 発明の名称: ガンの免疫治療剤

(57) Abstract: It is intended to provide a novel means for a novel immunotherapy under paying attention to the effects of activating NK cells, activating NKT cells, inhibiting angiogenesis, inducing IL-12 production and inducing IFN  $\gamma$  production. More specifically speaking, a novel use of immunotherapeutics for cancer characterized by comprising, to treat cancer depending on tissue and/or tissue type, classifying the treatment mechanisms at least into: (1) an effect of inhibiting angiogenesis; (2) an effect of inducing Th1 cytokines (TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$  and IL-12) and activating CTL; (3) increasing NK cells or activating the same; and (4) increasing NKT cells or activating the same, then measuring markers corresponding to respective effects, analyzing the measurement data depending on cancer tissue and/or tissue type, and thus selecting a prescription appropriate for the cancer tissue and/or tissue type.

(57) 要約:

NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の動態に着目した新免疫療法のための新規な手段の提供である。具体的には、ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、各ガンの組織別及び/又は組織型別に処方を選択することを特徴とするガンの免疫治療剤を提供した。

WO 03/030938 A1



ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## ガンの免疫治療剤

- 5 本出願は、参照によりここに援用されるところの、日本特許出願番号 2001-312051、2001-341116、2002-62373、2002-139004 からの優先権を請求する。

## 技術分野

- 10 本発明は、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の動態に着目した新免疫療法のための新規な手段の提供に関する。より詳しくは、スキルス性胃ガン、非スキルス性胃ガン、大腸ガン、前立腺ガン、乳ガン、肺ガン、悪性黒色腫、肝ガン、子宮ガン、腎ガン、精巣ガン、舌ガン、卵巣ガン、膵ガン等の各種ガンとその治療効果への NK
- 15 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の動態の相関性を検定することからなる新免疫療法のための新規な手段の提供に関する。

## 背景技術

- 20 ガン (malignant neoplasms) (cancer) の予防または治療のために有用な物質の選別には、従来、ガン細胞へのその直接的作用が重要視されていた。免疫賦活剤がガン治療に有用であることは認められていたが、免疫賦活剤として得られた化合物はいずれもその抗ガン効果が微弱であり、免疫療法単独または化学療法との併用治療によってもガンの十分な治療効果は達成されていない。
- 25 本発明者の医学博士、八木田は、先にガン治療における画期的な手法として、インターロイキン 12 (IL-12) を生体内で誘発する物質の有用性に着目し、キノコ菌糸体加工物がその機能を有することを発見し、新免疫療法 (Novel

## 2

Immunotherapy for cancer) (N I T C) ともいうべきガン治療法を確立した。

従来 IL-12 は、抗ガン効果があるものの生体内に IL-12 自体を直接投与した場合には副作用を生じるために患者が治療に耐えられないという事実があり、それ自体を抗ガン剤として使用できなかった。しかし、八木田が報告したキノコ菌糸体加工物を含む製剤は、ガンの治療において著しい治癒・延命効果を達成した。つまり八木田は、IL-12 を生体内で誘発できる有効量のキノコ菌糸体加工物を投与することにより、ガンの治療目的を達成した(特開平 10-139670 号公報)。

IL-12 は、 $TNF\alpha \rightarrow IFN\gamma \rightarrow IL-12 \rightarrow CTL$  活性というルートでキラー T 細胞の活性化効果と増強効果をもつ。つまり IL-12 の産生増強は、キラー T 細胞の活性化と増強により抗ガン効果が期待される。

八木田は、IL-12 の産生増強の系とは別に NKT 細胞の活性化が抗ガン効果に有用であることを報告している。谷口等は、NKT 細胞が有する  $V\alpha 24 V\beta 11$  という特異的な T 細胞抗原受容体 (TCR) が認識する特異的な糖脂質抗原を発見し、この抗原が、 $\alpha$  ガラクトシルセラミドであることを報告している。更に、 $\alpha$  ガラクトシルセラミドを投与した担ガンマウスでは、NKT 細胞が活性化され、ガンの消失はみられないものの転移が抑制されることを証明した。

NKT 細胞には、もう一つの受容体として NK 細胞抗原受容体 (NKR-P1; ナチュラルキラー受容体 P 1) があることは報告されている(特集 NKT 細胞の基礎と臨床:最新医学 55 巻 4 号 2000 年 818~823 ページ)。NKR-P1 も NKT 細胞の活性化に関与し、この活性化が抗ガン効果をより優位であることを八木田は見出している。

NK 細胞についても生体の抗ガン作用に係わるという報告がなされているが、これまで NK 細胞の活性と臨床的な抗ガン効果とが相関せず、IL-12 の産生誘発量と NK 細胞の活性とが完全な逆相関を示すことが八木田により証明されており、ヒトにおける抗ガン作用についての NK 細胞の関与は疑問視されていた。

発明の開示

本発明は、CTL 活性 (IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能)、NKT 活性、NK 活性、血管新生阻害作用 [-VEGF: VEGF (血管新生増生因子) の反数 (VEGF 測定数値にマイナス 1 を掛けて算出したパラメーター数値)] を測定し、その測定値を使い各測定結果の検定の意味するところを分析し、CTL 活性、NKT 活性、NK 活性及び VEGF のガン治療における各意義を見出すことによって、新免疫療法の完成を課題とする。

本発明は、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の動態と各種ガンへの効果には特異性が存在することを見出し、本発明からなる新免疫療法を達成した。

10

すなわち本発明は、

1. 次の少なくとも一が選択される各ガンの免疫治療剤；

1) スキルス胃ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

15 2) 非スキルス胃ガンの処置に際し、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

3) 大腸ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能、NKT 細胞の活性化能、及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

4) 前立腺ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

5) 乳ガンの処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。

6) 肺ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカー

25

にすること。

7) 肺扁平上皮ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

8) 肺小細胞ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能の治療意義を少なくとも重視  
5 しマーカーにすること。

9) 肺大細胞ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能、及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

10) 肺腺ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

10 11) 悪性黒色腫の処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

12) 肝ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

13) 子宮ガンの処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12  
15 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

14) 腎ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

15) 精巣ガンの処置に際し、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。  
20

16) 舌ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

17) 卵巣ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の  
25 少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

18) 腭ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。

2. ガンの免疫治療剤が次の少なくとも1から選ばれる前項1のガンの免疫治療剤；

1) NK細胞の活性化能及びNKT細胞の活性化能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにする $\alpha$ 1,3グルカン構造をもつガンの免疫治療剤。

2) IL-12の誘導産生能及びIFN $\gamma$ の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにするB1,3グルカン構造(B1,3-1,6構造)をもつガンの免疫治療剤。

3. 次の少なくとも1が選択される各ガンの免疫治療剤のスクリーニング方法；

1) スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

2) 非スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NKT細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12の誘導産生能、及びIFN $\gamma$ の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

3) 大腸ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IFN $\gamma$ の誘導産生能、NKT細胞の活性化能、IL-12の誘導産生能、血管新生阻害能、及びNK細胞の活性化能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

4) 前立腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12の誘導産生能、及びNK細胞の活性化能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

5) 乳ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IFN $\gamma$ の誘導産生能、IL-12の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

6) 肺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IFN $\gamma$ の誘導産生能、IL-12の誘導産生能、NK細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

7) 肺扁平上皮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12の誘導産生能、



## 6

及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

8) 肺小細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能を少なくとも重視しマーカーにすること。

9) 肺大細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、  
5 及びNKT細胞の活性化能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

10) 肺腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、NK細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

11) 悪性黒色腫の免疫治療剤のスクリーニングに際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及びIL-12 の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。  
10

12) 肝ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、及びIFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

13) 子宮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及びIL-12 の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。  
15

14) 腎ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、血管新生阻害能、及びIL-12 の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。  
20

15) 精巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NKT細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

16) 舌ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、及びIFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも1  
25 を重視しマーカーにすること。

17) 卵巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及びIL-12 の誘導産生能の少なくとも1を重視しマーカーにすること。

1 8) 脾ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

- 5 4. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、各ガンの組織別及び/又は組織型別に処方を選択することを特徴とするガンの免疫治療剤。
- 10

5. 肺ガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される前項 4 のガンの免疫治療剤。

- 15 1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

- 2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。
- 20

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

- 4) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

- 25 6. 胃ガン（スキルス性胃ガンと非スキルス性胃ガン）に対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される前項 4 のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

4) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

7. 乳ガン、大腸ガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される前項4のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

8. 前立腺ガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される前項4のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する

免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

5 3) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

9. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+)もしくは CD3(-)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーで、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(+)CD161(+)もしくは CD3(+)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーでなされる測定法から選ばれる前項 4～8 のガンの免疫治療剤。

15

10. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、又は④NKT 細胞数もしくはその活性化作用が優位の場合に、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、又は④NKT 細胞数もしくはその活性化作用を有するガン免疫治療剤と、抗ガン化学療法剤、放射線治療、ステロイド治療等から選ばれる少なくとも 1 の

20

25 処方と併用するガンの免疫治療剤。

11. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に

## 10

処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用のみが優位のときは、この系を障害しない程度の抗ガン化学療法剤、放射線治療、ステロイド治療等から選ばれる少なくとも1の処方と併用するか、又は②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有するガン免疫治療剤のみで処方するガンの免疫治療剤。

5

12. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガン組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、又は④NKT 細胞数もしくはその活性化作用が減弱している場合は、この活性化作用を有するガン免疫治療剤で処方するガンの免疫治療剤。

15

13. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+)もしくは CD3(-)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーで、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(+)CD161(+)もしくは CD3(+)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーでなされる測定法から選ばれる前項10～12のガンの免疫治療剤。

20

25

14. ガンの免疫治療剤のスクリーニング方法であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、候補化合物投与による各作用に対応するマーカーの測定値の特徴をもって、候補化合物の各ガンの組織別及び/又は組織型別の処方を選択することを特徴とするガンの免疫治療剤のスクリーニング方法。
15. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+)もしくは CD3(-)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーで、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(+)CD161(+)もしくは CD3(+)CD161(+)パーフォリン値の表面マーカーでなされる測定法から選ばれる前項 14 のガン免疫治療剤のスクリーニング方法。
16. 前項 1 ～ 15 の何れかーに記載の情報を利用したガン患者のサンプルでのガンの検査方法。
17. 前項 1 ～ 15 の何れかーに記載の情報を利用したガン患者のサンプルでのガンの診断方法。
18. 前項 1 ～ 17 の何れかーに記載の情報を利用したガンの治療方法
19. 前項 1 ～ 18 の何れかーに記載の情報を自然法則に利用した媒体に担

持した商業用媒体。

20. 前項19の商業用媒体を利用した商業方法。  
からなる。

5

図面の簡単な説明

【図1】NKT細胞 CD3(+)CD161(+)、NK細胞 CD3(-)CD161(+)、IFN $\gamma$ 、VEGF (マイナス値)の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値表である。

10 【図2】NKT細胞 CD3(+)CD161(+) (図中a)、NK細胞 CD3(-)CD161(+) (図中b)、IFN $\gamma$  (図中c)、VEGF (マイナス値) (図中d)の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値を図式化した。図中左より、胃ガン46例、スキルス胃ガン22例、非スキルス胃ガン24例、大腸ガン54例、前立腺ガン16例、乳ガン66例、肺ガン59例の統計処  
15 理による。

【図2-2】NKT細胞 CD3(+)CD161(+)、NK細胞 CD3(-)CD161(+)、IL-12、VEGF (マイナス値)の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値を図式化した。図中左より、胃ガン46例、スキルス胃ガン22例、非スキルス胃ガン24例、大腸ガン55例、前立腺ガン16例、  
20 乳ガン66例、肺ガン375例の統計処理による。

【図3】肺ガン組織型別のガン免疫療法のマーカー別寄与率の比較図。NKT細胞 CD3(+)CD161(+) (図中a)、NK細胞 CD3(-)CD161(+) (図中b)、IL-12 (図中c)、VEGF (マイナス値) (図中d)の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値を図式化した。図中左より肺ガン  
25 全体377例、肺腺ガン266例、肺大細胞ガン8例、肺小細胞ガン18例、肺扁平上皮ガン43例の統計処理による。

## 13

【図4】 癌免疫治療への主成分分析（第1成分）。図中 a : 胃ガン、b : スキルス性胃ガン、c : 非スキルス性胃ガン、d : 乳ガン、e : 大腸ガン、f : 肺ガン、g : 前立腺ガンを意味する。

5 【図5】 癌免疫治療への主成分分析（第2成分）。図中 a : 胃ガン、b : スキルス性胃ガン、c : 非スキルス性胃ガン、d : 乳ガン、e : 大腸ガン、f : 肺ガン、g : 前立腺ガンを意味する。

【図6】 癌免疫治療への主成分分析（第3成分）。図中 a : 胃ガン、b : スキルス性胃ガン、c : 非スキルス性胃ガン、d : 乳ガン、e : 大腸ガン、f : 肺ガン、g : 前立腺ガンを意味する。

10 【図7】 癌免疫治療への主成分分析（第4成分）。図中 a : 胃ガン、b : スキルス性胃ガン、d : 乳ガン、f : 肺ガン、g : 前立腺ガンを意味する。

【図8】 胃がんへの寄与分析を示す（第1～4成分）。図中、黒◆は胃がん全体での分析、○はスキルス性胃がんでの分析、△は非スキルス性胃がんでの分析である。

15 【図9】 乳癌への寄与分析を示す（第1～3成分）。

【図10】 大腸癌への寄与分析を示す（第1～3成分）。

【図11】 肺癌への寄与分析を示す（第1～4成分）。

【図12】 前立腺癌への寄与分析を示す（第1～4成分）。

20 【図13】 NKT 細胞 CD3(+)CD161(+), NK 細胞 CD3(-)CD161(+), IFN $\gamma$ , VEGF（マイナス値）の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値表である。

25 【図13-2】 NKT 細胞 CD3(+)CD161(+), NK 細胞 CD3(-)CD161(+), IFN $\gamma$ , VEGF（マイナス値）の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値を図式化した。図中左より、悪性黒色腫21例、胃ガン356例、肝ガン134例、子宮ガン126例、腎ガン48例、精巣ガン18例、舌ガン12例、前立腺ガン193例、大腸ガン505例、乳ガン500例、肺ガン562例、卵巣ガン151例、膵ガン98例の統計処理による。



【図14】NKT細胞CD3(+)CD161(+)、NK細胞CD3(-)CD161(+)、IL-12、VEGF（マイナス値）の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値表である。

【図14-2】NKT細胞CD3(+)CD161(+)(図中a)、NK細胞CD3(-)CD161(+)(図中b)、IL-12(図中c)、VEGF（マイナス値）(図中d)の4変数を用いたときの悪性ガン例の貢献度を偏回帰係数で評価した実例で、その数値を図式化した。図中左より、悪性黒色腫21例、胃ガン356例、肝ガン134例、子宮ガン126例、腎ガン48例、精巣ガン18例、舌ガン12例、前立腺ガン193例、大腸ガン505例、乳ガン500例、肺ガン562例、卵巣ガン151例、  
10 膵ガン98例の統計処理による。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を詳しく説明するが、本明細書中で使用されている技術的および科学的用語は、別途定義されていない限り、本発明の属する技術分野において通  
15 常の知識を有する者により普通に理解される意味を持つ。

本発明者の医学博士八木田のガン新免疫療法とは4つの異なる作用機序を組み合わせることからなる治療手段である。

第一の作用機序は、血管新生阻害物質（ベターシャーク）を投与してガンへの血流を障害してガン縮小をはかる方法である。これは血管内皮細胞増殖因子  
20 (VEGF)を測定することでその効果は判定が可能である。血管新生阻害作用はVEGF値のマイナス（負）値（-VEGF）で評価できる。このVEGF値の代わりにFGF、HGFなどのその他の血管増殖因子を用いることも血管新生阻害能を評価することが可能である。

またVEGFの代わりに血管新生阻害作用の正数値でもその評価が可能である  
25 (例えばエンドスタチン値)。

第二の作用機序は、 $\beta 1,3$ グルカン構造を担持する化合物を投与してTh1サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導してCTLを活性化する方法である。CTL活

## 15

性は CD8(+)パーフォリン産生能力で判定が可能であるが、この CD8(+)パーフォリン値には細胞障害性 T 細胞(CTL)と免疫抑制性 T 細胞(STC; Suppressor T cell)とがあり、前者はガン細胞を障害し、後者の活性化は結果的にガンの増殖につながる。したがってその絶対値では評価はできない。しかし前者は IFN $\gamma$  が 10 IU/ml 以上かもしくは IL-12 値が 7.8 pg/ml 以上であれば CTL であり、IFN $\gamma$  と IL-12 が低値であれば STC と判定される。そこで CTL 活性は、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で評価が可能である。

第三及び第四の作用機序である  $\alpha$ 1,3 グルカン構造を担持する化合物の投与によって活性化される effector 細胞は NK 細胞と NKT 細胞である。この NK と NKT 細胞とは NKR-P1(NK 細胞受容体 CD161(+))を共有しており、前者は CD3(-)CD161(+)の表面マーカーで NK 細胞数は測定可能であり、その活性化は CD3(-)CD161(+)パーフォリン産生能力で判定が可能である。一方後者の NKT 細胞は CD3(+)CD161(+)でその細胞数は測定が可能となり、そのパーフォリン産生能力で NKT 細胞の活性化は測定可能である。

したがってガン治療における新免疫療法 (NITC) であっても一般的な免疫療法であっても以下の測定項目でそれぞれの effector 細胞もしくは血管新生阻害作用を評価することが可能である。具体的には、CTL 活性は IFN $\gamma$  あるいは IL-12 の誘導産生能力で評価が可能である。NK 細胞の活性化は CD3(-)CD161(+)もしくは CD3(-)CD161(+)パーフォリン値でも評価可能である。NKT 細胞の活性化は CD3(+)CD161(+)もしくは CD3(+)CD161(+)パーフォリン値でも評価が可能である。

本発明は、臨床における結果と、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の相関性を検討することにより行われた。本発明者は、新免疫療法 (NITC) として、ガン患者に  $\alpha$ 1,3 グルカン構造を担持する化合物、 $\beta$ 1,3 グルカン構造を担持する化合物と血管新生阻害作用物質 (サメ軟骨) を併用し、IL-12、IFN $\gamma$  他の各種マーカーを測定した。そしてその測定結果は、CD8 (+) パーフォリン産生は、IFN $\gamma$  及

## 16

び IL-12 の産生とは強い正の相関性が存在することを見出した。この結果、CD8 (+) パーフォリン産生の測定は CTL 活性化能の評価に意義を見出した。

この意義を見出したことにより CD8 (+) パーフォリン産生能の測定は、有用な CTL 活性化剤のスクリーニング方法に適用可能であり、このスクリーニング方法を利用すれば CTL 活性化能を担持する B1,3 グルカンの特定が可能であることも見出した。本発明では、B1,3 グルカン構造を持つ茸菌糸体組成物製剤（例えば ILX、ILY：榑東西医薬研究所 いずれも商品登録）が、CD8 (+) パーフォリン産生能の活性化に有効であることを確認し、これらが CTL 活性化に有効であることを確認した。その他 B1,3 グルカン構造を持つ化合物は種々知られており、この既知構造と CD8 パーフォリン産生能の測定を組み合わせれば当業者は容易に CTL 活性化剤を特定可能である。

本発明では、NK 細胞の意義を NKT 細胞との関係から新規に確立した。その確立のために、本発明者は NK 細胞の新規測定法を提供した。それは CD3 (-) CD161 (+) の測定が、既知クローム・リリース法での結果との対比により、正確な NK 細胞の測定であることを見出した。また、CD3 (-) CD161 (+) パーフォリン産生能の測定は、NK 細胞の活性化を意味しており、さらにこの活性化が特に有効なガン種は前立腺ガンであることを見出した。かくして、CD3 (-) CD161 (+) パーフォリン産生能の測定を含む方法は、NK 活性化剤のスクリーニング方法として有用であり、さらに、本発明では、 $\alpha$ 1,3 グルカン構造を持つニゲロオリゴ糖、フコイダン等の組成物製剤が、CD3 (-) CD161 (+) パーフォリン産生能の活性化に有効であることを確認し、これらが NK 細胞の活性化に有効であることを再確認した。このスクリーニング方法で得られる NK 活性化能を担持する  $\alpha$ 1,3 グルカンは制ガン剤として有用であり、その他  $\alpha$ 1,3 グルカン構造を持つ化合物は種々知られており、この既知構造と CD3 (-) CD161 (+) パーフォリン産生能の測定を組み合わせれば当業者は容易に NK 活性化剤を特定可能である。

さらに本発明では、CD3 (-) CD161 (+)、CD3 (-) CD161 (+) パー

## 17

オリン産生能、CD3 (+) CD161 (+)、CD3 (+) CD161 (+) パーフォリン産生能を同時に測定し、NK 細胞と NKT 細胞の動態の測定法を実施することの意義も見出した。つまり、本発明者は、この測定を利用し分析した結果、NK 細胞と NKT 細胞の活性化が、両方とも前記  $\alpha 1,3$  グルカン構造を持つ化合物によって有効であり、その活性化は、両者は逆相関の関係、つまり NK 細胞が活性化すると NKT 細胞は抑制され、NKT 細胞が活性化されると NK 細胞が抑制されることを見出した。この結果、両系は相互に補い合いの関係にあり、ガン種類、患者適合性、 $\alpha 1,3$  グルカン構造等によって特異的に制ガン剤として利用されるべきことを見出した。上記測定法を含む NK 活性化剤又は NKT 活性化剤の分別を可能とするスクリーニング方法を提供する。本発明では、 $\alpha 1,3$  グルカン構造を持つニゲロオリゴ糖、フコイダン等の組成物製剤が有用であることを確認した。かくして、このスクリーニング方法で得られる NK 活性化能又は NKT 活性化能を担持する  $\alpha 1,3$  グルカンは制ガン剤として有用であり、その他  $\alpha 1,3$  グルカン構造を持つ化合物は種々知られており、この既知構造と CD3 (-) CD161 (+)、CD3 (-) CD161 (+) パーフォリン産生能、CD3 (+) CD161 (+)、CD3 (+) CD161 (+) パーフォリン産生能の測定を組み合わせれば当業者は容易に NK 活性化剤及び NKT 活性化剤を特定可能である。

本発明による測定法を利用し、ガン種と NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の各作用機作が、結果的に抗ガン特性に対してどの程度影響を与えるかを統計学の重回帰分析と主成分分析によって分析した。各分析は SPSS <sup>登録商標</sup> (エス・ピー・エス・エス株式会社製) や Statview <sup>登録商標</sup> (SAS Institute Inc.製) などの統計解析ソフトを用いて行うことができる。分析法の原理は「医学統計学ハンドブック」(朝倉書店、宮原英夫、丹後俊朗編) などに記載されており、適用方法を以下に詳細に説明する。

抗ガン特性は、各患者の奏効率を評価関数として評価することができる。奏効率は IAP、TPA、アルファーフエト、PIVKA-II、DUPAN-2、エ

ラスターゼ、CA19-9、CEA、SPa n-1、NCC-ST-439、CA15-3、BCA225、シアリルLEX、PA、 $\gamma$ -セミノプロテイン、PAP、CA125、CA72-4、STNコウゲン、SCC、シフラ、PROGRP、NSE、BFP、NMP22、GAT、ICTP、フェリチン、サイログロブリン、カルシトニン、HCG、HCG- $\beta$  サブユニット、IgG等の腫瘍マーカー値とX線写真やシンチグラム、MRIなどの画像診断情報を元に判定し、CR（完全寛解）、PR（部分寛解）、LNC（6ヶ月以上の長期不変）、SNC（6ヶ月未満の短期不変）、PD（病状進行）の5段階判定を行った。さらにCR、PR、LNC、SNC、PDにそれぞれ10、7、4、2、0を割り振り、奏効率を点数化（ダミー変数化）した。

CD3(+) CD161(+), CD3(+) CD161(+) パーフォリン、CD3(-) CD161(+), CD3(-) CD161(+) パーフォリン、TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12、Th1/Th2比、-VEGFの各マーカーが奏効率に影響を与えるため、これが独立変数となる。各マーカー値は、平均値を引き、標準偏差で割る標準化の操作を行い、単位の違いによる絶対値の違いが影響を与えないようにした。

以上の評価関数と独立変数の相関を、胃ガン、スキルス性胃ガン、非スキルス性胃ガン、大腸ガン、前立腺ガン、乳ガン、肺ガン、悪性黒色腫、肝ガン、子宮ガン、腎ガン、精巣ガン、舌ガン、卵巣ガン、膵ガンなどの各ガン種について重回帰分析によって調べた。独立変数は、NKT細胞の活性化能を表すものとしてCD3(+) CD161(+) を、NK細胞の活性化能を表すものとしてCD3(-) CD161(+) を、血管新生阻害能を表すものとして-VEGFを、CTL誘導を表すものとしてIL-12またはIFN $\gamma$ の値を用いた、4独立変数の重回帰分析を行った。重回帰分析の結果得られる各独立変数に対する偏回帰係数の値によって、各作用機作の効果を検討した。

また、胃ガン（スキルス性、非スキルス性）、乳ガン、大腸ガン、肺ガン、前立腺ガンでは、CD3(+) CD161(+), CD3(+) CD161(+) パーフォリン、CD3(-) CD161(+), CD3(-) CD161(+) パーフォリン、TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12、

Th1/Th2 比、-VEGF の各マーカーの分散について主成分分析を行い、寄与率（各成分の分散／各成分の分散の全成分に関する和）が 10%以上になる第 1 成分から第 4 成分までの 4 つの成分を取り出し、各成分中の各マーカーに伴う係数から、各マーカーの連動程度を調べた。

5 以上の重回帰分析と主成分分析の結果から、以下を確認した。

ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、  
10 各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、各ガンの組織別及び/又は組織型別に処方を選択することはガンの免疫治療剤として極めて有用である。

$\alpha$ 1,3 グルカン構造を含む NK 細胞活性化剤はスキルス性胃ガン、肺ガン、大腸ガン、前立腺ガン、肝ガン、腎ガン、舌ガン、膵ガンに対して有効である。 $\alpha$ 1,3  
15 グルカン構造を含む NKT 細胞活性化剤は、スキルス性胃ガン、非スキルス性胃ガン、大腸ガン、肝ガン、腎ガン、精巣ガン、舌ガン、膵ガンに対して有効である。 $\beta$ 1,3 グルカン構造（ $\beta$ 1,3-1,6 構造）を含む IL-12 の誘導産生剤は、肺ガン全体（肺腺ガン、肺大細胞ガン、肺小細胞ガン、肺扁平上皮ガン）、非スキルス性胃ガン、大腸ガン、前立腺ガン、乳ガン、悪性黒色腫、子宮ガン、腎ガン、舌ガン、  
20 卵巣ガン、膵ガンに対して有効である。 $\beta$ 1,3 グルカン構造（ $\beta$ 1,3-1,6 構造）を含む IFN $\gamma$  の誘導産生剤は、非スキルス性胃ガン、乳ガン、大腸ガン、肺ガン、悪性黒色腫、肝ガン、子宮ガン、舌ガン、卵巣ガンに対して有効である。

スキルス胃ガンの処置に際しては、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能で少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有  
25 効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が極めて好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、NK 細胞の活性化能と NKT 細胞の活性

## 20

化能を有する免疫治療剤の併用・配合、－VEGF に作用する免疫治療剤の優先順位がある。

非スキルス胃ガンの処置に際しては、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能で少なくとも 1 のその治療意義を重視し  
5 マーカーにすることが有効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が極めて好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、NK 細胞の活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、－VEGF に作用する免疫治療剤の優先順位がある。

- 10 大腸ガンの処置に際しては、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、NKT 細胞の活性化能、NK 細胞の活性化能で少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が極めて好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、  
15 NK 細胞の活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合の優先順位がある。

- 前立腺ガンの処置に際しては、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能で少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が極めて  
20 好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、－VEGF に作用する免疫治療剤の優先順位がある。

- 乳ガンの処置に際しては、IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、血管新生阻害能で少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が  
25 極めて好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、NK 細胞の活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の優先順位がある。

## 21

肺ガンの処置に際しては、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能、血管新生阻害能で少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。また、CTL 活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合が極めて好ましい組合せである。以下、CTL 活性化能と

5 NK 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、NK 細胞の活性化能と NKT 細胞の活性化能を有する免疫治療剤の併用・配合、—VEGF に作用する免疫治療剤の優先順位がある。

肺ガンの組織型別の分析によると、肺扁平上皮ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーに

10 すること、肺小細胞ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能の治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること、肺大細胞ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること、肺腺ガンの処置に対し IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効で

15 ある。

悪性黒色腫の処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

肝ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効

20 である。

子宮ガンの処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

腎ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

25



## 2 2

精巣ガンの処置に際し、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

舌ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

卵巣ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

膀胱ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすることが有効である。

スキルス胃ガンの処置に際しては、NK 細胞の活性化能を保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、又は NKT 細胞の活性化能保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、またはこれらの併用・配合が有効である。

非スキルス胃ガンの処置に際しては、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を保持する B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、又は NKT 細胞の活性化能を保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、またはこれらの併用・配合が有効である。

大腸ガンの処置に際しては、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を保持する B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、NKT 細胞の活性化能を保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、又は NK 細胞の活性化能保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、またはこれらの併用・配合が有効である。

前立腺ガンの処置に際しては、IL-12 の誘導産生能を保持する B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、又は NK 細胞の活性化能を保持する  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、またはこれらの併用、配合が有効である。

乳ガンの処置に際しては、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を保持する B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤が有効である。

## 23

肺ガンの処置に際しては、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を保持する B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、又は NK 細胞の活性化能を保持する  $\alpha$ 1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤、またはこれらの併用・配合が有効である。

- 5      この知見を元にした各種ガンの特異的な治療剤の選別／スクリーニングが可能である。つまり、スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。非スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能及び IFN $\gamma$  の
- 10   誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。大腸ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。前立腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。乳
- 15   ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。肺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NK 細胞の活性化能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。肺扁平上皮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導
- 20   産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。肺小細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能を少なくとも重視しマーカーにする。肺大細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。肺腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導
- 25   産生能、NK 細胞の活性化能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。悪性黒色腫の免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカー

## 24

一にする。肝ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。子宮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。腎ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。精巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。舌ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。卵巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。膵ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際しては、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにする。

本発明者は、さらに本発明による測定法を利用し、NK 細胞の活性化及び NKT 細胞の活性化と抗ガン剤、放射線、及びステロイド治療の併用の影響を確認したところ、CTL 活性化においては重大な影響があったものが、これら NK 細胞及び NKT 細胞の活性化には抗ガン剤、放射線、及びステロイド治療の併用の影響は一切無いことを見出した。その結果、NK 細胞活性化剤及び NKT 細胞活性化剤による、ガン治療あつては、抗ガン剤、放射線、及びステロイド治療との併用が可能であり、より一層の制ガン効果が達成される。

抗ガン免疫能力には 2 種類の免疫系が係わっており、その一つは (a) TNF $\alpha$  (ガン壊死因子  $\alpha$ )  $\rightarrow$  IFN $\gamma$   $\rightarrow$  IL-12  $\rightarrow$  キラー T 細胞 (CTL) の系統 (CTL 活性化) であり、他の一つは (b) NKT 細胞活性化の系統又は NK 細胞活性化の系統である。これまでの新免疫療法 (NITC) ではこの 2 系統に際し同程度の治療成績が認められている。すなわち (a) IL-12  $\rightarrow$  キラー T 細胞活性  $\rightarrow$  アポトーシスの系統が活

性化された結果として治療効果が得られた例と、(b) NKT 細胞活性化の系統又は NK 細胞活性化の系統が活性化された結果として治療効果が得られた例とが認められている。

しかし、抗ガン剤、放射線、あるいはステロイド併用療法を行った場合、上記  
5 2種類の免疫系のうち、 $TNF\alpha \rightarrow IFN\gamma \rightarrow IL-12 \rightarrow$ キラーT細胞の系統が著しく障害される。一方、NKT 細胞活性化の系統及び NK 細胞活性化の系統は全く障害されていないことを新たに見いだした。この現象に立脚しガン治療法を新たに組みなおすことにより、本発明の別の態様を完成した。すなわち、抗ガン剤、放射線、あるいはステロイド併用療法をガン治療に組み込むときは、(b)の免疫系が強力  
10 であれば併用療法は可能であり治療効果は良好となる。しかし (b)の免疫系が弱く (a)の免疫系のみが強い場合、併用療法は失敗することが予想される。この場合は、本発明に係る NKT 細胞又は NK 細胞の活性化物質である  $\alpha 1,3$  糖( $\alpha 1,3$  立体構造の糖類物質)の投与、すなわち (b)の免疫系を強化する  $\alpha 1,3$  糖の併用が必要となる。もしくは抗ガン剤を投与するとき、(a)の免疫系を障害しない投  
15 与法である低濃度化学療法すなわち 5FU、UFT、ミフロール、フルツロン、CDDP (5 $\mu$ g~10 $\mu$ g)の低濃度やタキソテールあるいはタキソール、アドリアマイシン、マイトマイシン、CPT-11などの低濃度抗ガン剤の投与法等を適用することが不可欠である。また同様に放射線療法において低容量照射の適用、ステロイド療法においても低濃度投与等を選択する必要がある。

20 従って抗ガン剤、放射線、あるいはステロイド療法を行う場合は、これらの療法を施される対象の各種免疫能力の測定は不可欠であり、その測定結果を踏まえて (b)の免疫系が強力な場合はこれを温存するべく NKT 細胞又は NK 細胞の活性化能を有する物質すなわち  $\alpha 1,3$  立体構造を有する糖類物質の投与が必要であり、(b)の系統の免疫力が減弱している場合はさらに  $\alpha 1,3$  立体構造を有する糖  
25 類物質の大量投与あるいは直接体内投与、例えば注射による投与が必要となる。また (a)の系統の免疫能力のみが作用している場合は、(a)の免疫系を障害しない程度の抗ガン剤投与すなわち低濃度投与もしくはガン免疫治療剤投与による

## 26

(a) 免疫系をすみやかに立ち上げる方法をこうじるべく (a) 免疫系の強化すな  
わち IL-12 誘導物質の大量投与が必要となる。

以上のような情報は、ガン患者から摘出したサンプルにおいて、各ガン作用に  
対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析  
し、もって、各ガンの組織別及び/又は組織型別に処方を選択することを特徴とす  
るガンの検査方法、診断方法、及び治療方法を提供した。

またこれらの情報は自然法則を利用した媒体に担持すれば商業用媒体となり、  
またその商業用媒体は有用な商業方法を提供する。

$\alpha 1,3$  グルカン構造の糖類物質としては、例えば、ニゲロオリゴ糖 (TSO)、  
フコイダン、硫酸オリゴ糖等が挙げられる。

ニゲロオリゴ糖は、 $3-O-\alpha-D$ -グルコピラノシル-D-グルコースを構成  
単位として含有する糖類である。代表的なものとしては、ニゲロース、ニゲロシ  
ルグルコース、ニゲロシルマルトース等が挙げられる。

また、市販されているニゲロオリゴ糖としては、ニゲロオリゴ糖液糖 (販売者・  
武田食品工業株式会社) が挙げられるが、これが含有する主なニゲロオリゴ糖は  
(1) ニゲロース  $\alpha-D-Glc p-(1,3)-D-Glc$  (2) ニゲロシルグルコース  
 $\alpha-D-Glc p-(1,3)-\alpha-D-Glc p-(1,4)-D-Glc$  (3) ニゲロシルマルトース  $\alpha-D-Glc$   
 $p-(1,3)-\alpha-D-Glc p-(1,4)-D-Glc$  (なお、Glc はグルコー  
ス、p はピラノースの略号である) である。

フコイダンは、狭義ではフコースの 2 乃至 6 分子に硫酸 1 分子が結合した硫酸  
化フコース含有多糖類であり、これにキシロースあるいはウロン酸を含有したフ  
コイダン様多糖体を食品レベルで「フコイダン」と称している。フコイダンは、  
例えばコンブを破碎し、チップ化し、水溶液成分を抽出した後、抽出残渣を遠心  
分離により除去し、ヨードや塩化ナトリウム等の低分子物質を限外ろ過により除  
去して凍結乾燥化して製剤化される。

フコイダンとしては、褐藻類由来フコイダン、例えばガゴメコンブ由来のフコ  
イダン、およびオキナワモズク由来フコイダン等が例示される。ガゴメコンブ等

の褐藻類コンブ科由来のフコイダンには少なくとも3種類のフコイダン、F-フコイダン ( $\alpha$ -L-フコースのポリマー)、U-フコイダン ( $\beta$ -D-グルクロン酸と  $\alpha$ -D-マンノースを主鎖とし、側鎖に  $\alpha$ -L-フコースをもつ)、G-フコイダン ( $\beta$ -D-ガラクトースを主鎖とし、側鎖に  $\alpha$ -L-フコースをもつ)、が  
5 存在しており、いずれのフコイダンもフコースが硫酸化されている。

硫酸オリゴ糖としては、例えば株式会社白子製のスサビノリ (*Poryphyra Yezaensis*) 由来の抽出物があげられる。該抽出物の主成分は  $\alpha$ 1,3 結合のガラクトタン硫酸のオリゴ糖と  $\alpha$ 1,3 結合および  $\beta$ 1,4 結合よりなるガラクトタン硫酸のオリゴ糖である。

10 本発明の CTL 活性化剤 (IL-12 産生誘導剤、INF $\gamma$  産生誘導剤)、NK 活性化剤、NKT 活性化剤は、本発明の測定法を伴い、その適用法を選別することで肺ガン(肺扁平上皮ガン、肺腺ガン、小細胞肺ガン)、胸腺腫、甲状腺ガン、前立腺ガン、腎ガン、膀胱ガン、結腸ガン、直腸ガン、食道ガン、盲腸ガン、尿管ガン、乳ガン、子宮頸ガン、脳ガン、舌ガン、咽頭ガン、鼻腔ガン、喉頭ガン、胃ガン、肝ガン、  
15 胆管ガン、精巣ガン、卵巣ガン、子宮(体)ガン、転移性骨ガン、悪性黒色腫、骨肉腫、悪性リンパ腫、形質細胞腫、脂肪肉腫、腓ガン等の治療に有効である。

本発明に係る CTL 活性化剤 (IL-12 産生誘導剤、INF $\gamma$  産生誘導剤)、NK 活性化剤、NKT 活性化剤は、本発明の測定法による結果を指標として、その活性化を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる処方にて用いられる。すなわち、  
20 指標をもとに、その活性化を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる投与量、ならびに投与期間を選択して用いられる。具体的には、その投与量は、NK 活性化剤又は NKT 活性化剤である  $\alpha$ -1,3 グルカン構造を持つ化合物は 1 g ~ 40 g / 日程度、好ましくは 5 g ~ 20 g / 日程度で、CTL 活性化剤 (IL-12 産生誘導剤、INF $\gamma$  産生誘導剤) である  $\beta$ -1,3 グルカン構造を持つ化合物は 1 g ~ 10  
25 g / 日程度、好ましくは 3 g ~ 6 g / 日程度である。また、投与期間は一般的には 10 日間 ~ 24 ヶ月間、投与頻度は 1 ~ 3 回 / 日で、好ましくは連日投与である。当該 CTL 活性化剤 (IL-12 産生誘導剤、INF $\gamma$  産生誘導剤)、NK 活性化剤、

NKT 活性化剤は、好適には経口摂取される。無論、投与量を減少させ、これらを非経口に耐え得る品質に調製することで、非経口摂取（静脈内または筋肉内投与などを含む）も可能である。

細胞および各マーカーの測定方法を以下に例示する。

5 (NKT 細胞の測定) (NK 細胞の測定) (CD8 の測定)

NKR-P1 を有する NKT 細胞の測定は、NKT 細胞の細胞表面に特異的に存在する細胞表面抗原（CD3 および CD161）の測定により行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、CD3 が陽性でかつ CD161 が陽性（CD3（+）CD161（+））の細胞を検定する。つまり、NKT 細胞の細胞表面抗原である CD3  
10 および CD161 を、モノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーを使用する Two Color 検査により測定する。ここで NKT 細胞が活性化されているとは、リンパ球の中で CD3（+）CD161（+）NKT 細胞の割合が 10%以上、より好ましくは 16%以上であることをいう。NKT 細胞活性化能とは、NKT 細胞の割合を 10%以上、より好ましくは 16%以上に増加せしめる機能、またはある物質を投与する前の NKT 細胞の割合より更に増強せしめる機能を意味する。  
15

同様に（CD3（-）CD161（+））とは CD3 が陰性でかつ CD161 が陽性の細胞を検定することである。この方法が本発明では NK 細胞の測定に有用であることを確認した。

さらに CD8（+）とは CD8 が陽性の細胞を検定することである。この方法が  
20 本発明では CTL 活性の測定に有用であることを確認した。

実施例ではガン患者の血液を用いて、血中細胞について細胞表面抗原である CD3、CD161、CD8 について陽性・陰性で区別し、各細胞の割合を、フローサイトメトリーを用いた Two Color 検査により常法通り測定した。このとき CD3、CD161、CD8 に対するモノクローナル抗体は、それぞれコールター社製又はベク  
25 トンディッキンソン社製ものを使用した。

（パーフォリン産生細胞の測定）

末梢血中のリンパ球について、細胞表面抗原である CD3、CD8、CD161 のう

ち2者とパーフォリンについてフローサイトメトリーを用いた Three Color 検査により常法通り測定する。具体的には、採取した血液に固定液を加えて細胞を固定し、膜透過液を添加後抗パーフォリン抗体 (Pharmingen 社製) を添加して反応させ、さらに P R E - C y 5 標識二次抗体 (DAKO 社製) を添加して反応させ、  
5 ついで抗 CD3-PE (Coulter 6604627) 抗体および抗 CD161-FITC (B-D) 抗体を添加して反応させ、その後フローサイトメトリーで測定する。図中での略語は PERF と表示した。

(サイトカインを測定するための試料の調製)

まず、血液より単核球画分を分離調製する。ヘパリン加末梢血をリン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate Buffered Saline) (PBS) で2倍に希釈して混和した後、  
10 Ficoll-Conray 液 (比重 1.077) 上に重層し、400G で20分間遠沈後、単核球画分を採取する。洗浄後、10%牛胎児血清 (FBS) を加えた R P M I - 1640 培地を加え、細胞数を  $1 \times 10^6$  個となるように調製する。得られた細胞浮遊液 200  $\mu$ l にフィトヘマグルチニン (Phytohemagglutinin) (DIFCO 社  
15 製) を 20  $\mu$ g / ml の濃度となるように加え、96穴マイクロプレートにて5% CO<sub>2</sub> 存在下、37℃で24時間培養し、該培養した細胞溶液中のサイトカインを測定する試料とする。

(IL-12 の測定)

IL-12 量の測定は自体公知の臨床、生化学的検査を利用できるが、R&D  
20 SYSTEMS 社や MBL 社より入手することのできる酵素免疫測定法 (ELISA) による測定キットが使用される。ここでは R&D SYSTEMS 社の測定キットを用いた。実際には96穴マイクロプレートの各穴に測定用希釈液 Assay Diluent RD1F を 50  $\mu$ l、標準液 (standard) または実施例1で調製した試料を 200  $\mu$ l ずつ分注した後、室温にて静置して2時間反応させた。その後、西洋わさびパーオキシダーゼ (horse radish peroxidase) (HRP) 標識抗 IL-12 抗体を 20  
25 0  $\mu$ l ずつ分注し2時間室温で静置した。各穴の反応液を除去し3回洗浄後、発色基質溶液を 200  $\mu$ l ずつ分注し、20分間室温静置後、酵素反応停止溶液を



50  $\mu$ l ずつ分注した。550 nm を対照として 450 nm における各穴の吸光度を Emax (和光純薬株式会社製) にて測定した。IL-12 量は、pg/ml として表される。ここで IL-12 産生誘発能とは、末梢血単核球画分が刺激により産生する IL-12 量を、7: 8 pg/ml 以上に増強せしめる機能、またはある物質を投与する前の IL-12 産生量より増強せしめる機能を意味する。

(IFN $\gamma$  の測定)

IFN $\gamma$  の測定は、BioSource Europe S.社の IFN $\gamma$  EASIA キットを用いて、酵素免疫測定法 (EIA 法) で測定した。実際には 96 穴マイクロプレートの各穴に標準液 (standard) または上記調製した試料を 2 倍希釈したものを 50  $\mu$ l ずつ分注し、HRP 標識抗 IFN- $\gamma$  抗体を 50  $\mu$ l ずつ分注し更に振盪しながら 2 時間室温で反応させた。各穴の反応液を除去し 3 回洗浄後、発色基質溶液を 200  $\mu$ l ずつ分注し、振盪しながら 15 分間室温で反応させ、酵素反応停止溶液を 50  $\mu$ l ずつ分注した。630 nm を対照として 450 nm および 490 nm における各穴の吸光度を Emax (和光純薬株式会社製) にて測定した。IFN $\gamma$  量は、IU/ml として表される。

(血管新生阻害能の測定)

(血管内皮細胞増殖因子、VEGF と塩基性繊維芽細胞増殖因子、bFGF 及び血管新生阻害因子エンドスタチン、endostatin の測定)

市販キットの各酵素免疫固相法 (ELISA: enzyme linked immuno sorbent assay) (ACCUCYTE Human VEGF, ACCUCYTE Human bFGF, ACCUCYTE Human Endostatin: CYTIMMUNE Sciences Inc.) で血清中濃度を測定した。

(実施例)

以下に、実施例を用いて本発明を具体的に説明するが、本発明は本実施例に限定されるものではない。

25 (実施例 1)

患者には、IL-X (榊東西医薬研究所)、さめ軟骨 (セイシン企業)、及び  $\alpha$ 1,3 構造をもつ糖類が、各推奨処方により投与された。処置患者群 (148 症例) で、

ガンの種類と NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  誘導産生能の寄与の関係を統計解析のパッケージソフト SPSS 登録商標（エス・ピー・エス・エス株式会社製）を用いて重回帰分析によって解析した。

- 5 図 1 と図 2 は、NKT 細胞 CD3(+)CD161(+)、NK 細胞 CD3(-)CD161(+)、IFN $\gamma$ 、VEGF（マイナス値）の 4 変数を用いたときの対悪性腫瘍例への貢献度を偏回帰係数で評価した実例である。図 1 はその数値表であり、図 2 は数値を図式化した。

胃ガン全体では、-VEGF、NK 細胞、IFN $\gamma$ 、NKT 細胞の関与は認められた。

- 10 スキルス性胃ガンでは NK 細胞、-VEGF、NKT 細胞の関与は認められ、IFN $\gamma$  の関与は認められなかった。一方非スキルス性胃ガンでは NKT 細胞、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与は認められ、NK 細胞の関与は認められなかった。大腸ガンでは、NK 細胞、NKT 細胞、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与が認められた。前立腺ガンでは -VEGF、NK 細胞の関与は認められ、IFN $\gamma$ 、NKT 細胞の関与は認められなかつた。
- 15 た。乳ガンでは IFN $\gamma$ 、-VEGF の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の関与は認められなかった。肺ガンでは IFN $\gamma$ 、NKT 細胞、-VEGF の関与は認められ、NK 細胞の関与は認められなかった。

- 図 2-2 は、NKT 細胞 CD3(+)CD161(+)、NK 細胞 CD3(-)CD161(+)、IL-12、VEGF（マイナス値）の 4 変数を用いたときの対悪性腫瘍例への貢献度を偏回帰係数で評価した実例である。図 2-2 は数値を図式化した。
- 20

胃ガン全体では、-VEGF、NK 細胞、IL-12、NKT 細胞の関与は認められた。

- スキルス性胃ガンでは NK 細胞、-VEGF、NKT 細胞の関与は認められ、IL-12 の関与は認められなかった。一方非スキルス性胃ガンでは NKT 細胞、-VEGF、NK 細胞、IL-12 の関与は認められた。大腸ガンでは、NK 細胞、NKT 細胞、-VEGF、IL-12 の関与が認められた。前立腺ガンでは、NK 細胞、IL-12 の関与は認められ、NKT 細胞、-VEGF の関与は認められなかった。乳ガンでは IL-12、-VEGF の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の関与は認められなかった。肺
- 25

## 32

ガンでは IL-12、-VEGF の関与は認められ、NK 細胞、NKT 細胞の関与は認められなかった。

図 3 は、肺ガンの組織型別に各マーカーの寄与率を偏回帰係数で評価したものである。組織型別に共通性と特異性が認められた。肺癌全体では IL-12 と -VEGF のみが寄与（貢献）しているとの結果であった。しかし IL-12 は組織型別とは無関係に寄与率は最大であった。一方、-VEGF は扁平上皮癌が最も寄与率が高く、ついで肺腺癌であり大細胞癌と小細胞癌では全く寄与していないとの結果を得た。NKT 細胞は、肺大細胞癌でのみ寄与していたが、NK 細胞は肺腺癌のみで寄与していた。

- 10 ①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用による 4 種類の作用メカニズムはそれぞれ独立して抗腫瘍作用を発揮しているとの考え方に従ってそれぞれの寄与率を検討した各変数の許容度から各成分に関して多重共線性が若干認められた。このため実際には
- 15 上述の①~④のパスが連動して抗腫瘍性を発揮している可能性がある。この考え方に基づき肺ガンについて SPSS 登録商標 ス・ピー・エス・エス株式会社製)を用いて主成分分析を行った。図 4~7 に示すように、最も多い寄与率の大きい成分の組み合わせ（第 1 成分）は、Th1 サイトカイン (TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12) と NKT 細胞 (CD3 (+) CD161 (+)) の組み合わせであった。以下、第 2 成分は Th1 サイトカインと NK 細胞の組み合わせであった。第 3 成分は NK 細胞と NKT 細胞との組み合わせであり、第 4 成分は -VEGF が独立していることが判明した。
- 20

- 胃癌（スキルス胃癌と非スキルス胃癌）、乳癌、大腸癌、前立腺癌のそれぞれにおいても癌免疫治療への主成分分析を行った。前立腺癌を除いては肺癌と同様に第 1 成分（最も寄与率の大きい免疫系の組み合わせ）は Th1 サイトカインと NKT
- 25 細胞の組み合わせであり、第 2 成分は Th1 サイトカインと NK 細胞であり、第 3 成分は NKT 細胞と NK 細胞であった。そして胃癌、肺癌の第 4 成分は -VEGF であった。

## 33

前立腺癌は第1成分が Th1 サイトカインと NKT 細胞である。第2成分が Th1 サイトカインと NK 細胞である。第3成分は-VEGF と Th1/Th2 であった。すなわち前立腺癌では他の癌と著しく異なる傾向が認められた。

図 8～11 は、各癌の組織別に各ファクターの寄与度を分析したもので、これにより、各癌に対しての、活性化を刺激するマーカーを明らかにした。図 8 は、胃がんへの寄与分析を示す（第1～4成分）。図中、黒◆は胃がん全体での分析、○はスキルス性胃がんでの分析、△は非スキルス性胃がんでの分析である。三種とも略同一の傾向であった。第一成分（最も寄与率の大きい免疫系の組み合わせ）は、CD3 (+) CD161 (+) 及び CD3 (+) CD161 (+) PERF が寄与率大であり NKT 細胞の寄与が確認できる。また Th1 サイトカインの寄与も大きい。

図 9 は、乳癌への寄与分析を示す（第1～3成分）。図 10 は、大腸癌への寄与分析を示す（第1～3成分）。図 11 は、肺癌への寄与分析を示す（第1～4成分）。図 12 は、前立腺癌への寄与分析を示す（第1～4成分）。

## 15 (実施例 2)

抗がん剤、放射線治療、あるいはステロイド療法との併用をおこなった各種ガン患者に、IL-X（榊東西医薬研究所）、さめ軟骨（セイシン企業）、及び  $\alpha 1,3$  構造をもつ糖類が、各推奨処方により投与された。処置患者群で、ガンの種類と NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能及び IFN $\gamma$  誘導産生能との関係を分析した。その結果、著効を示した全ての症例で、NK 細胞の活性化能又は NKT 細胞の活性化能は維持されていた（約 10% 以上）が、IL-12 の誘導産生能はいずれも著しい低下を示し、いずれも 7.8 pg/ml 以下であった。

## 25 (実施例 3)

実施例 1 と同様な方法で、処置患者数及びガンの種類を変えて、ガンの種類と NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生

## 34

能及び IFN $\gamma$  誘導産生能の寄与の関係を統計解析のパッケージソフト SPSS 登録商標 (エス・ピー・エス・エス株式会社製) を用いて重回帰分析によって解析した。

図 1 3 と図 1 3 - 2 は、NKT 細胞 CD3(+ )CD161(+ )、NK 細胞 CD3(- )CD161(+ )、IFN $\gamma$ 、VEGF (マイナス値) の 4 変数を用いたときの対悪性腫瘍例への貢献度を偏回帰係数で評価した実例である。図 1 3 はその数値表であり、図 1 3 - 2 は数値を図式化した。

悪性黒色腫では、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の関与は認められなかった。胃ガン (全体) では、NK 細胞、NKT 細胞、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与が認められた。肝ガンでは、NK 細胞、NKT 細胞、IFN $\gamma$  の関与が認められ、-VEGF の関与は認められなかった。子宮ガンでは、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の関与は認められなかった。腎ガンでは、NKT 細胞、-VEGF の関与は認められ、NK 細胞、INF $\gamma$  の関与は認められなかった。精巣ガンでは、NKT 細胞、-VEGF の関与は認められ、NK 細胞、INF $\gamma$  の関与は認められなかった。舌ガンでは、NK 細胞、NKT 細胞、IFN $\gamma$  の関与が認められ、-VEGF の関与は認められなかった。前立腺ガンでは NK 細胞の関与は認められ、-VEGF、IFN $\gamma$ 、NKT 細胞の関与は認められなかった。大腸ガンでは、NK 細胞、NKT 細胞、-VEGF、IFN $\gamma$  の関与が認められた。乳ガンでは IFN $\gamma$ 、-VEGF の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の関与は認められなかった。肺ガンでは IFN $\gamma$ 、NK 細胞、-VEGF の関与は認められ、NKT 細胞の関与は認められなかった。卵巣ガンでは、IFN $\gamma$  の関与が認められ、NKT 細胞、NK 細胞、-VEGF の関与は認められなかった。膀胱ガンでは、NKT 細胞、NK 細胞の関与が認められ、IFN $\gamma$ 、-VEGF の関与は認められなかった。

図 1 4 と図 1 4 - 2 は、NKT 細胞 CD3(+ )CD161(+ )、NK 細胞 CD3(- )CD161(+ )、IL-12、VEGF (マイナス値) の 4 変数を用いたときの対悪性腫瘍例への貢献度を偏回帰係数で評価した実例である。図 1 4 はその数値表であり、図 1 4 - 2 は数値を図式化した。

悪性黒色腫では、-VEGF、IL-12 の関与は認められ、NKT 細胞、NK 細胞の

関与は認められなかった。胃ガン（全体）では、NK細胞、NKT細胞、-VEGFの関与が認められ、IL-12の関与は認められなかった。肝ガンでは、NK細胞、NKT細胞の関与が認められ、IL-12、-VEGFの関与は認められなかった。子宮ガンでは、-VEGF、IL-12の関与は認められ、NKT細胞、NK細胞の関与は認められなかった。腎ガンでは、NKT細胞、-VEGF、NK細胞、IL-12の関与は認められた。精巣ガンでは、NKT細胞、-VEGFの関与は認められ、NK細胞、IL-12の関与は認められなかった。舌ガンでは、NK細胞、NKT細胞、IL-12の関与が認められ、-VEGFの関与は認められなかった。前立腺ガンではNK細胞、IL-12の関与は認められ、-VEGF、NKT細胞の関与は認められなかった。大腸ガンでは、NKT細胞、-VEGF、IL-12の関与が認められ、NK細胞の関与は認められなかった。乳ガンではIL-12、-VEGFの関与は認められ、NKT細胞、NK細胞の関与は認められなかった。肺ガンではIL-12、NK細胞、-VEGFの関与は認められ、NKT細胞の関与は認められなかった。卵巣ガンでは、IL-12の関与が認められ、NKT細胞、NK細胞、-VEGFの関与は認められなかった。膵ガンでは、NKT細胞、IL-12、NK細胞の関与が認められ、-VEGFの関与は認められなかった。

以上の結果から各悪性腫瘍のタイプによって、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、血管新生阻害能、IL-12の誘導産生能及びIFN $\gamma$ の誘導産生能に寄与度差が認められることが判明した。この結果は個々の悪性腫瘍患者の病態を知るのみならず治療法の指針となり、オーダーメイド治療をする際の治療指針を提供する。また、抗ガン剤、放射線、ステロイド療法を併用する場合、NK、NKT細胞、-VEGFは抑制されないが、IFN $\gamma$ やIL-12は抑制されることがわかっている。このような併用療法を行う場合でも有効な治療指針であるものと考えられる。

25

#### 産業上の利用可能性

以上の実験および実施例によれば、NK細胞の活性化能、NKT細胞の活性化能、

## 36

血管新生阻害能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能は、ガンのタイプによって特異的な寄与率のあることが見出され、ガン治療における画期的な成果を達成した。

## 請求の範囲

1. 次の少なくとも一が選択される各ガンの免疫治療剤；

- 5 1) スキルス胃ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。
- 2) 非スキルス胃ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。
- 10 3) 大腸ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、NKT 細胞の活性化能、及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。
- 4) 前立腺ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。
- 15 5) 乳ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。
- 6) 肺ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマ-
- 20 カーにすること。
- 7) 肺扁平上皮ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。
- 8) 肺小細胞ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能の治療意義を少なくとも重視しマーカーにすること。
- 25 9) 肺大細胞ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにすること。
- 10) 肺腺ガンの処置に際し、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能、及



び血管新生阻害能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 1) 悪性黒色腫の処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 2) 肝ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 3) 子宮ガンの処置に際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 4) 腎ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 5) 精巣ガンの処置に際し、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 6) 舌ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 7) 卵巣ガンの処置に際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

1 8) 膵ガンの処置に際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにすること。

2. ガンの免疫治療剤が次の少なくとも1から選ばれる請求項1のガンの免疫治療剤；

1) NK 細胞の活性化能、及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも1のその治療意義を重視しマーカーにする  $\alpha 1,3$  グルカン構造をもつガンの免疫治療剤。

2) IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 のその治療意義を重視しマーカーにする B1,3 グルカン構造をもつガンの免疫治療剤。

3. 少なくとも一が選択される各ガンの免疫治療剤のスクリーニング方法；

1) スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

2) 非スキルス胃ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

3) 大腸ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

4) 前立腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、及び NK 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

5) 乳ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

6) 肺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し IFN $\gamma$  の誘導産生能、IL-12 の誘導産生能、NK 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

7) 肺扁平上皮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

8) 肺小細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能を少なくとも重視しマーカーにすること。

9) 肺大細胞ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能及び NKT 細胞の活性化能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

10) 肺腺ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IL-12 の誘導産生能、

## 40

NK 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 1) 悪性黒色腫の免疫治療剤のスクリーニングに際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 2) 肝ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 3) 子宮ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、血管新生阻害能、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 4) 腎ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、血管新生阻害能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 5) 精巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NKT 細胞の活性化能、及び血管新生阻害能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 6) 舌ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、IL-12 の誘導産生能、及び IFN $\gamma$  の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 7) 卵巣ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、IFN $\gamma$  の誘導産生能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

1 8) 膵ガンの免疫治療剤のスクリーニングに際し、NK 細胞の活性化能、NKT 細胞の活性化能、及び IL-12 の誘導産生能の少なくとも 1 を重視しマーカーにすること。

4. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1

## 4 1

サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に 5 区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び /又は組織型別に分析し、もって、各ガンの組織別及び/又は組織型別に処方を選択することを特徴とするガンの免疫治療剤。

5. 肺ガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される請求項 4 のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有 10 する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 15 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

4) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

6. 胃ガン（スキルス性胃ガンと非スキルス性胃ガン）に対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される請求項 4 のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有 20 する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。 25

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合し

てなるガンの免疫治療剤。

4) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

7. 乳ガン、大腸ガンから選ばれるガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される請求項4のガンの免疫治療剤。

5 1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

3) ③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

8. 前立腺ガンに対する免疫治療剤であって、以下の処方から選択される請求項4のガンの免疫治療剤。

1) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と④NKT 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

2) ②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有する免疫治療剤と③NK 細胞数の増加もしくはその活性化作用を有する免疫治療剤を併用又は配合してなるガンの免疫治療剤。

3) ①血管新生阻害作用を有するガンの免疫治療剤。

9. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+)もしくは CD3(-)CD161(+)パーフォリン値の

## 4 3

表面マーカーで、及び④NKT細胞数もしくはその活性化作用の測定がCD3(+ )CD161(+ )もしくはCD3(+ )CD161(+ )パーフォリン値の表面マーカーでなされる測定法から選ばれる請求項4～8のガンの免疫治療剤。

1 0. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別

5 に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、  
②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、  
③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、③NK細胞数もしくはその活性化作用、  
10 又は④NKT細胞数もしくはその活性化作用が優位の場合に、③NK細胞数もしくはその活性化作用、又は④NKT細胞数もしくはその活性化作用を有するガン免疫治療剤と、抗ガン化学療法剤、放射線治療、ステロイド治療等から選ばれる少なくとも一の処方と併用するガンの免疫治療剤。

1 1. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別

15 に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、  
③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、  
20 IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用のみが優位のときは、この系を障害しない程度の抗ガン化学療法剤、放射線治療、ステロイド治療等から選ばれる少なくとも一の処方と併用するか、又は②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用を有するガン免疫治療剤のみで処方するガンの免疫治療剤。

25 1 2. ガンの免疫治療剤の新規用途であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、  
②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、

③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、各作用に対応するマーカーを測定し、その測定値をガンの組織別及び/又は組織型別に分析し、もって、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、又は④NKT 細胞数もしくはその活性化作用が減弱している場合は、この活性化作用を有するガン免疫治療剤で処方するガンの免疫治療剤。

1 3. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、② Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+ )もしくは CD3(-)CD161(+ )パーフォリン値の表面マーカーで、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(+ )CD161(+ )もしくは CD3(+ )CD161(+ )パーフォリン値の表面マーカーでなされる測定法から選ばれる請求項 1 0 ~ 1 2 のガンの免疫治療剤。

1 4. ガンの免疫治療剤のスクリーニング方法であって、ガンを組織別及び/又は組織型別に処置するために、ガン処置の作用機作を少なくとも①血管新生阻害作用、②Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用、③NK 細胞数もしくはその活性化作用、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用に区別し、候補化合物投与による各作用に対応するマーカーの測定値の特徴をもって、候補化合物の各ガンの組織別及び/又は組織型別の処方を選択することを特徴とするガンの免疫治療剤のスクリーニング方法。

1 5. ①血管新生阻害作用の測定が VEGF 値のマイナス値 (-VEGF) で、② Th1 サイトカイン(TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-12)を誘導して CTL を活性化する作用の測定が、IFN $\gamma$  産生能力 (IFN $\gamma$  値) もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で又は CD8 (+) パーフォリン値の表面マーカーで、③NK 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(-)CD161(+ )もしくは CD3(-)CD161(+ )パーフォリン値の表面マーカーで、及び④NKT 細胞数もしくはその活性化作用の測定が CD3(+ )CD161(+ )もしくは CD3(+ )CD161(+ )パーフォリン値の表面マーカー

## 4 5

一でなされる測定法から選ばれる請求項 1 4 のガンの免疫治療剤のスクリーニング方法。

1 6. 前項 1 ～ 1 5 の何れかーに記載の情報を利用したガン患者のサンプルでのガンの検査方法。

5 1 7. 請求項 1 ～ 1 5 の何れかーに記載の情報を利用したガン患者のサンプルでのガンの診断方法。

1 8. 請求項 1 ～ 1 7 の何れかーに記載の情報を利用したガンの治療方法

1 9. 請求項 1 ～ 1 8 の何れかーに記載の情報を自然法則を利用した媒体に担持した商業用媒体。

10 2 0. 請求項 1 9 の商業用媒体を利用した商業方法。



1/17

図 1

4変数(NK,NKT,INF $\gamma$ ,VEGF)

	NKT (CD3+C D161+)	NK (CD3- CD161+)	INF $\gamma$	-VEGF
胃ガン(n=46)	0.06	0.19	0.12	0.24
スキルス性胃ガン(n=22)	0.07	0.29	-0.08	0.13
非スキルス性胃ガン(n=24)	0.28	-0.01	0.08	0.20
大腸ガン(n=54)	0.08	0.08	0.02	0.08
前立腺ガン(n=16)	-0.53	0.03	-0.03	0.09
乳ガン(n=66)	-0.18	-0.06	0.19	0.02
肺ガン(n=59)	0.11	-0.01	0.23	0.06

図 2

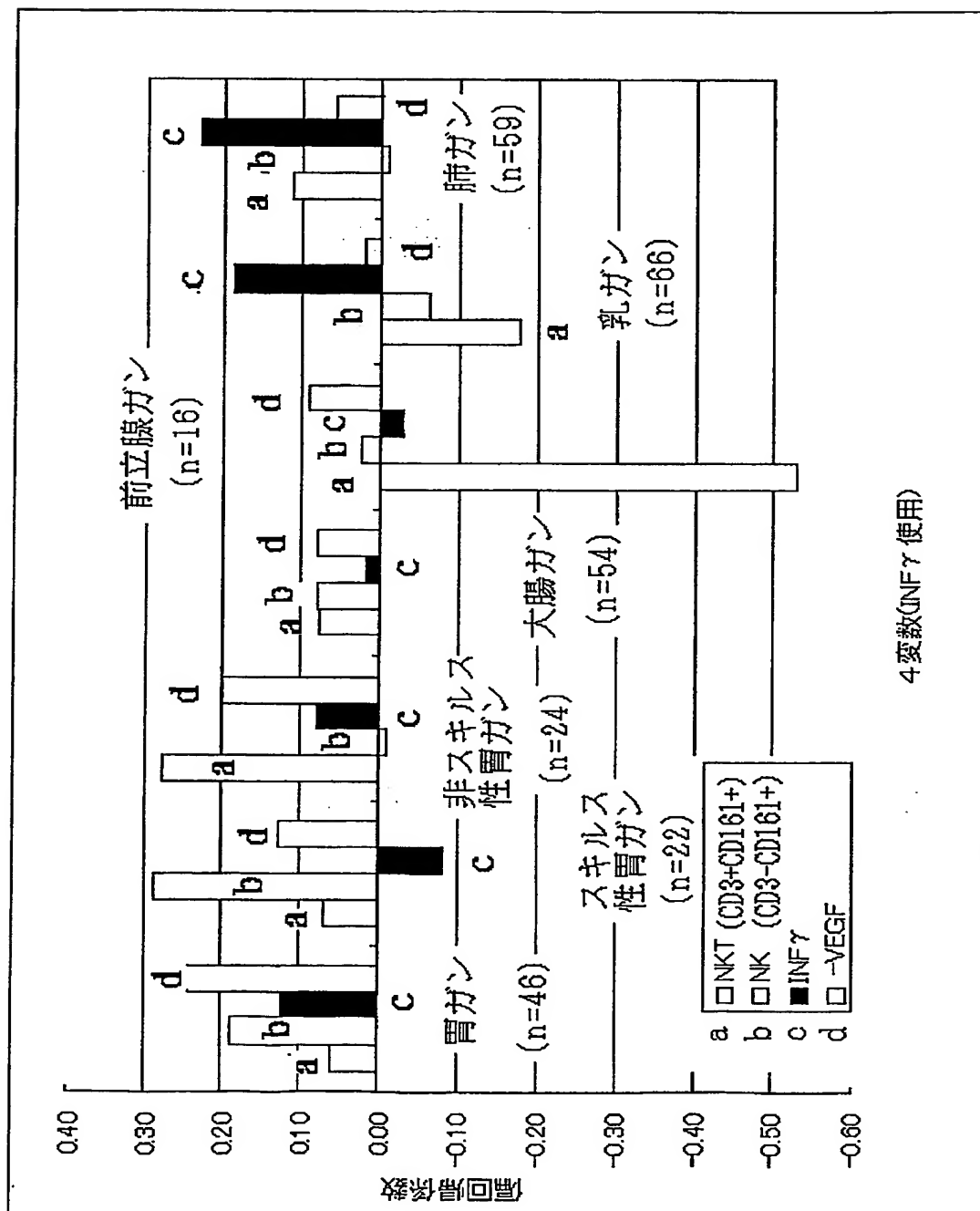


図 2 - 2

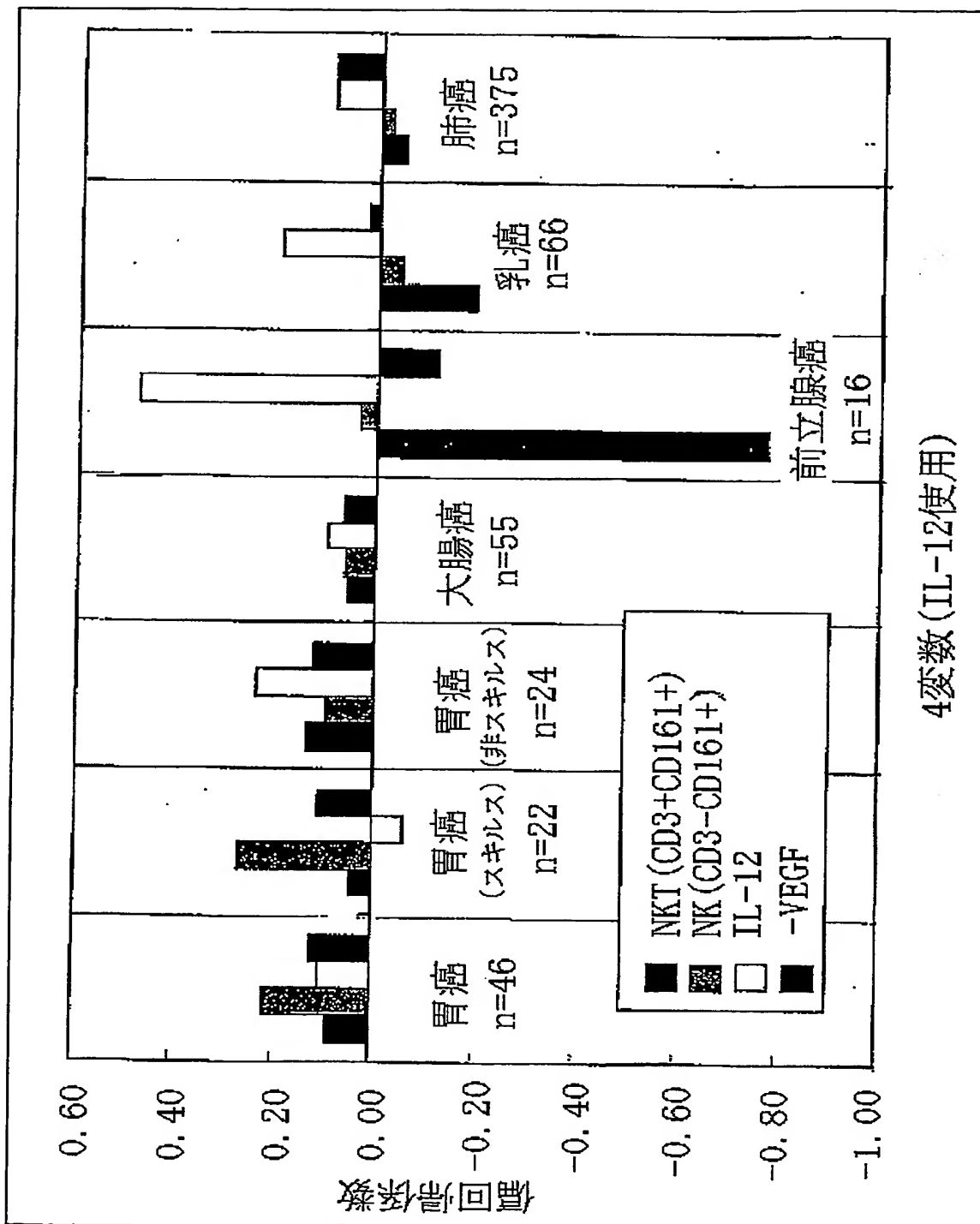
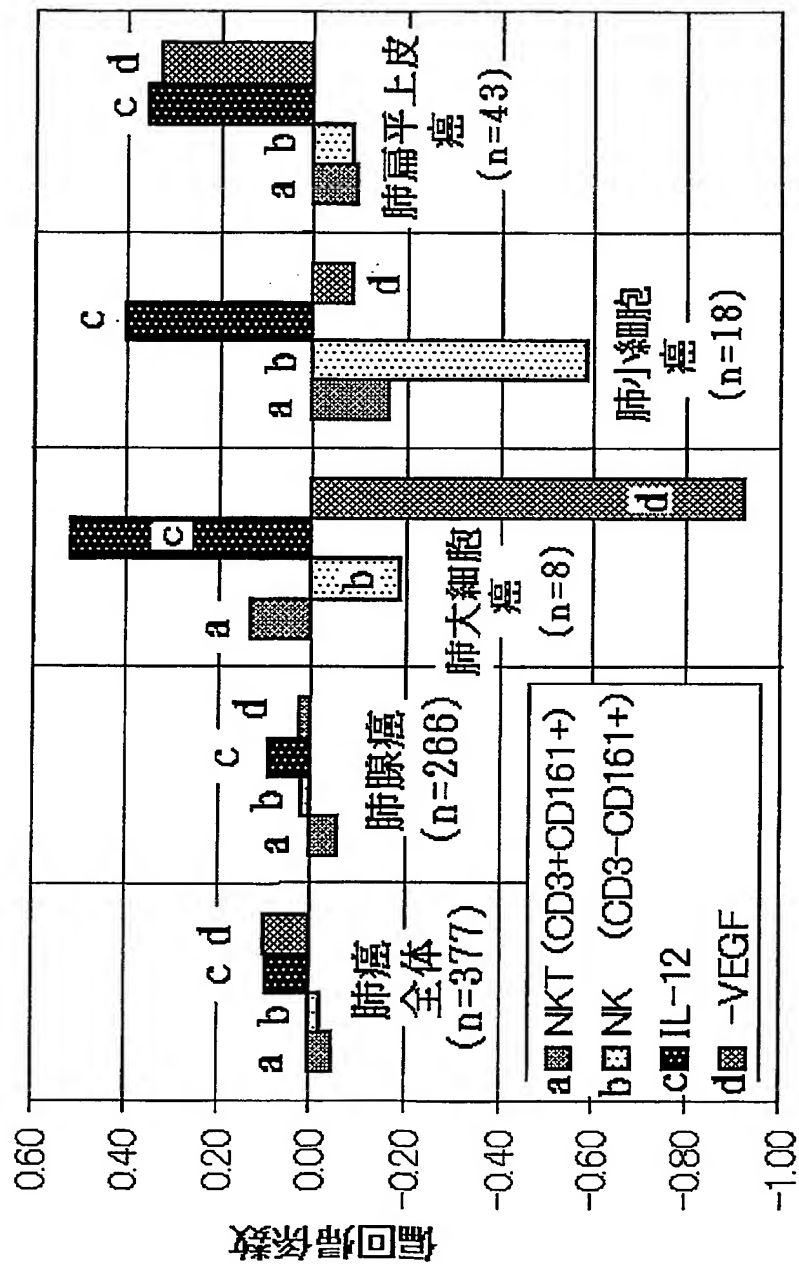
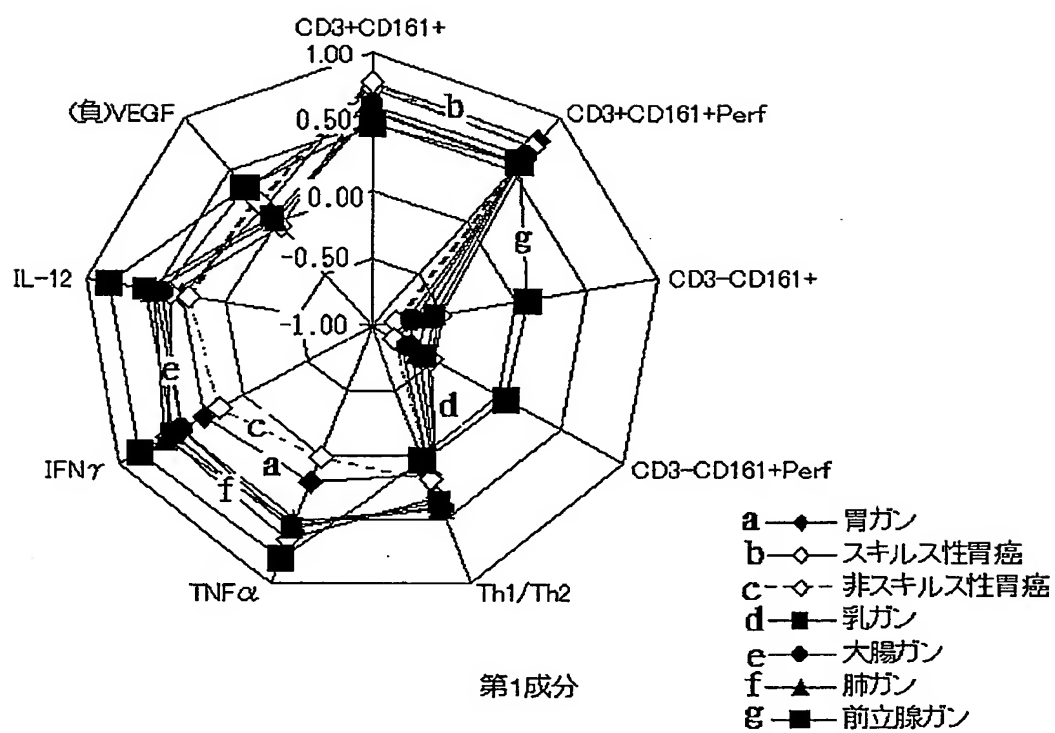


図 3



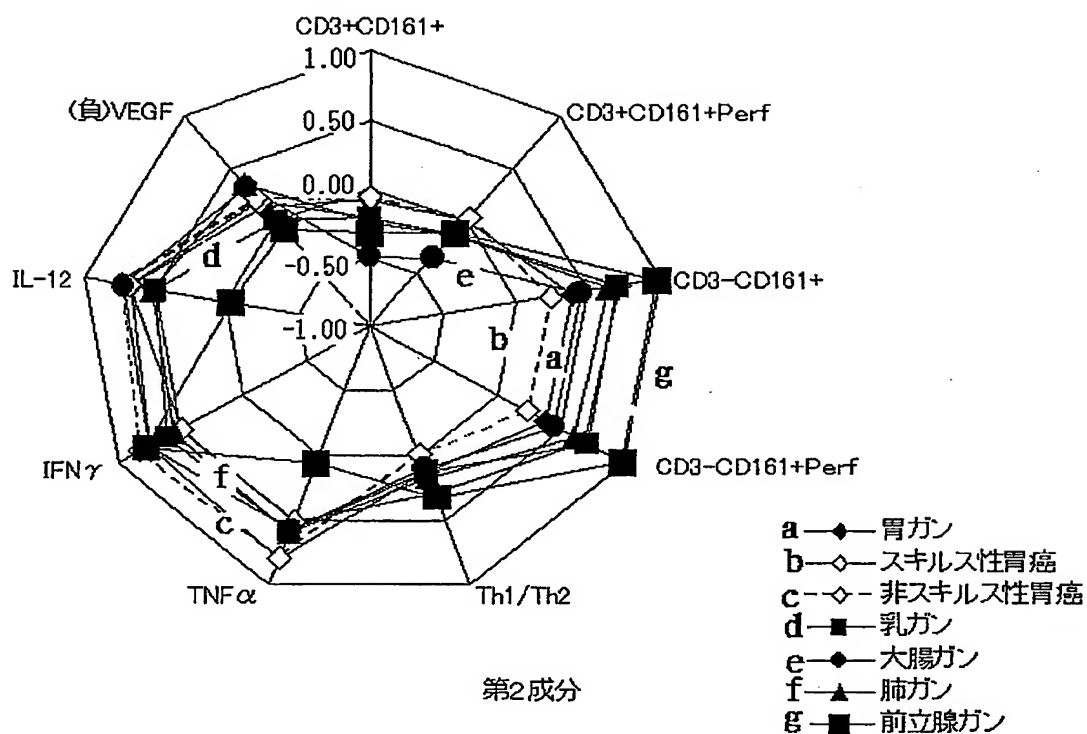
5/17

図 4



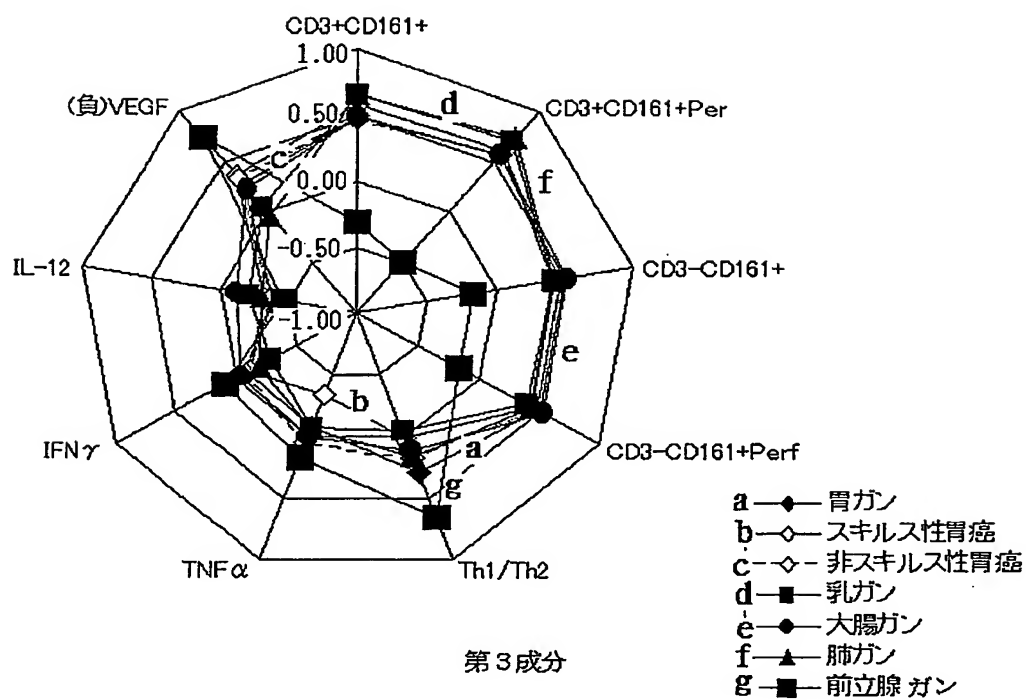
6/17

図 5



7/17

図 6



8/17

図 7

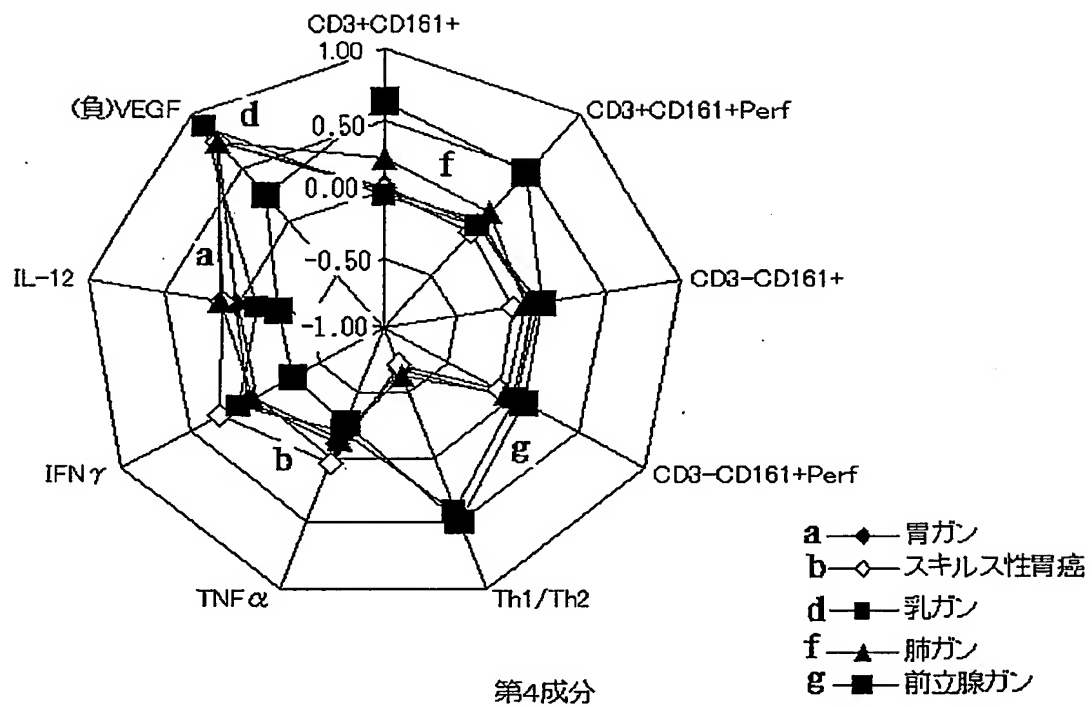




図 8

主成分分析 (胃癌)

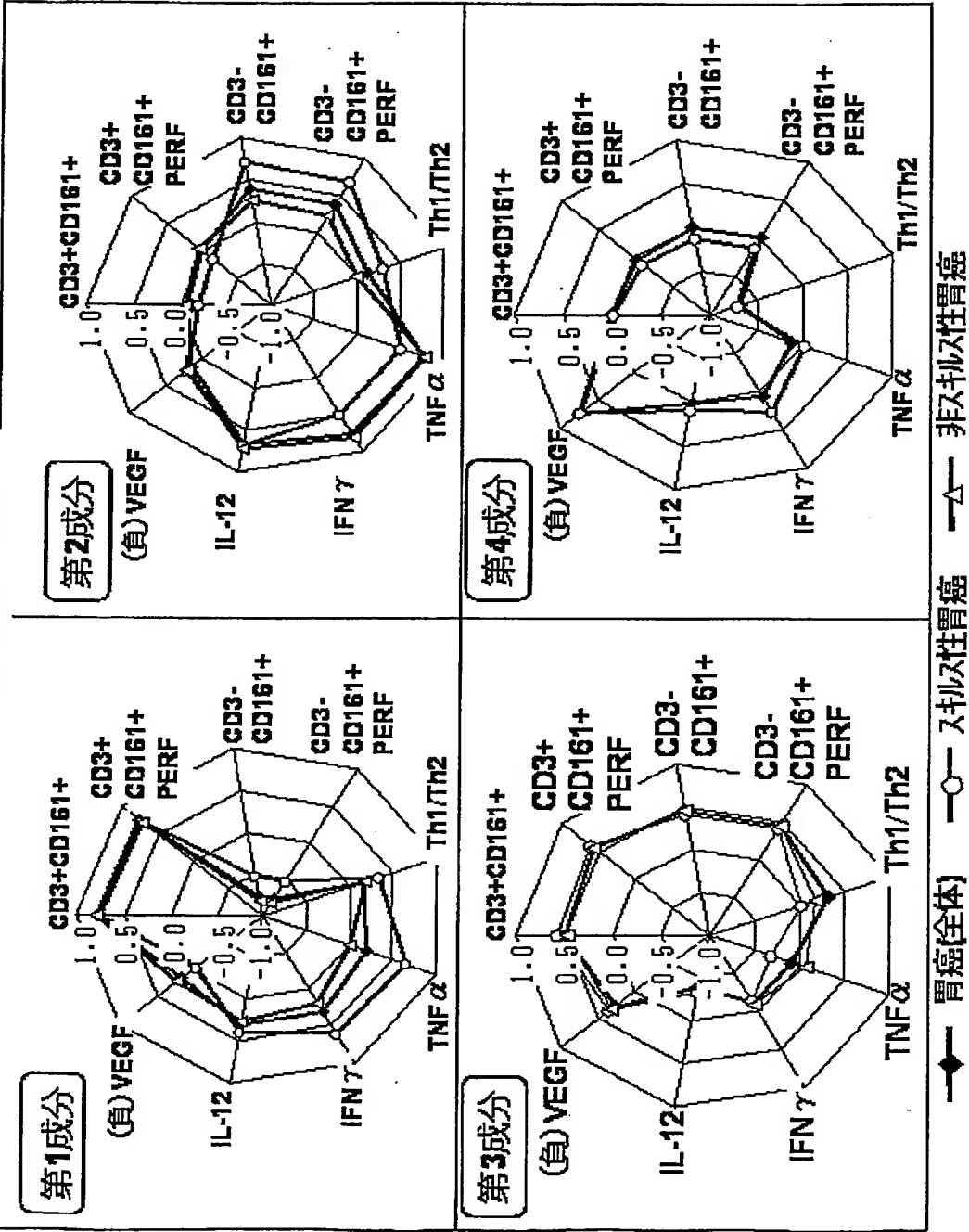


図 9

主成分分析(乳癌)

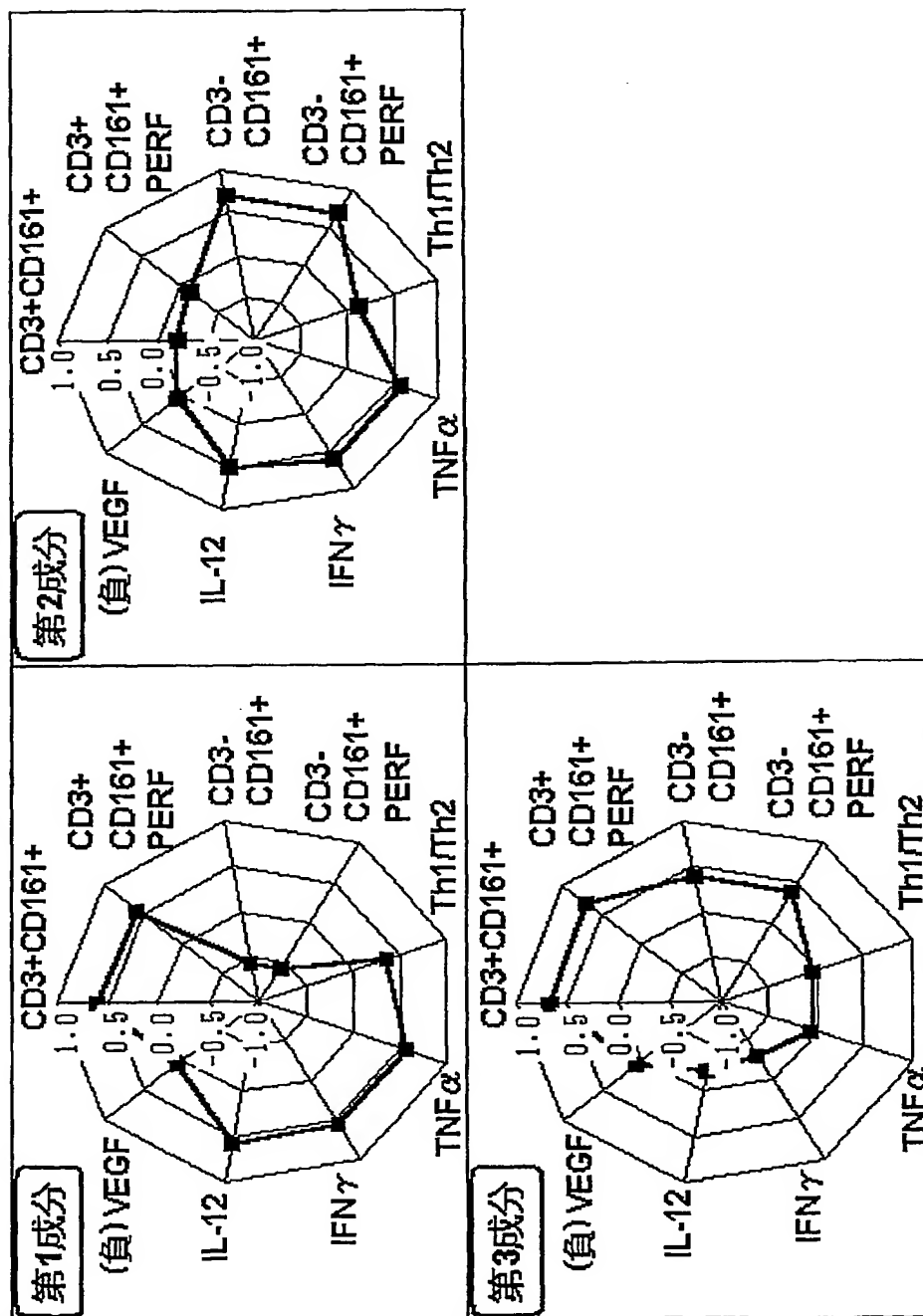
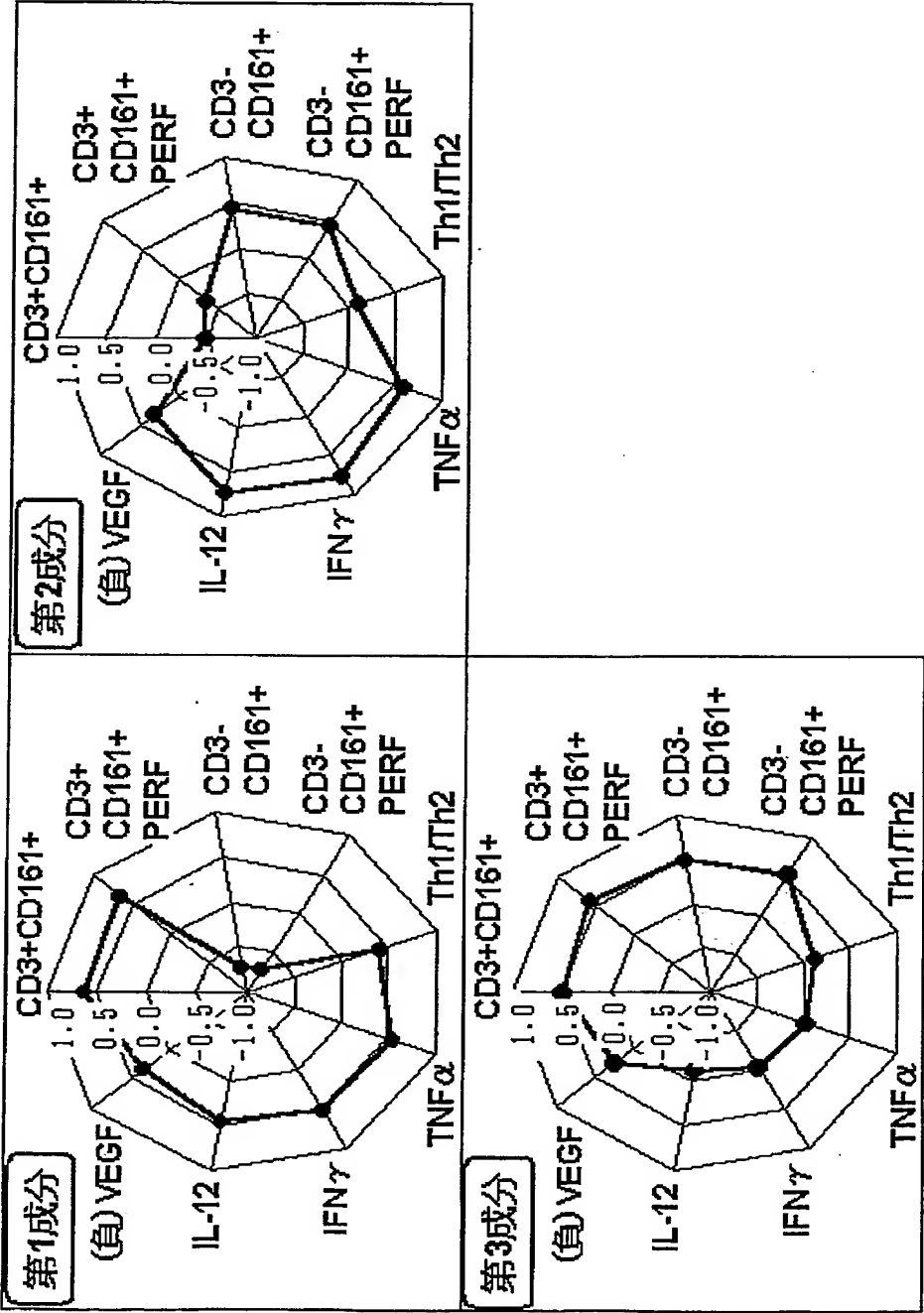


図 10

主成分分析(大腸癌)



12/17

図 1 1

主成分分析(肺癌)

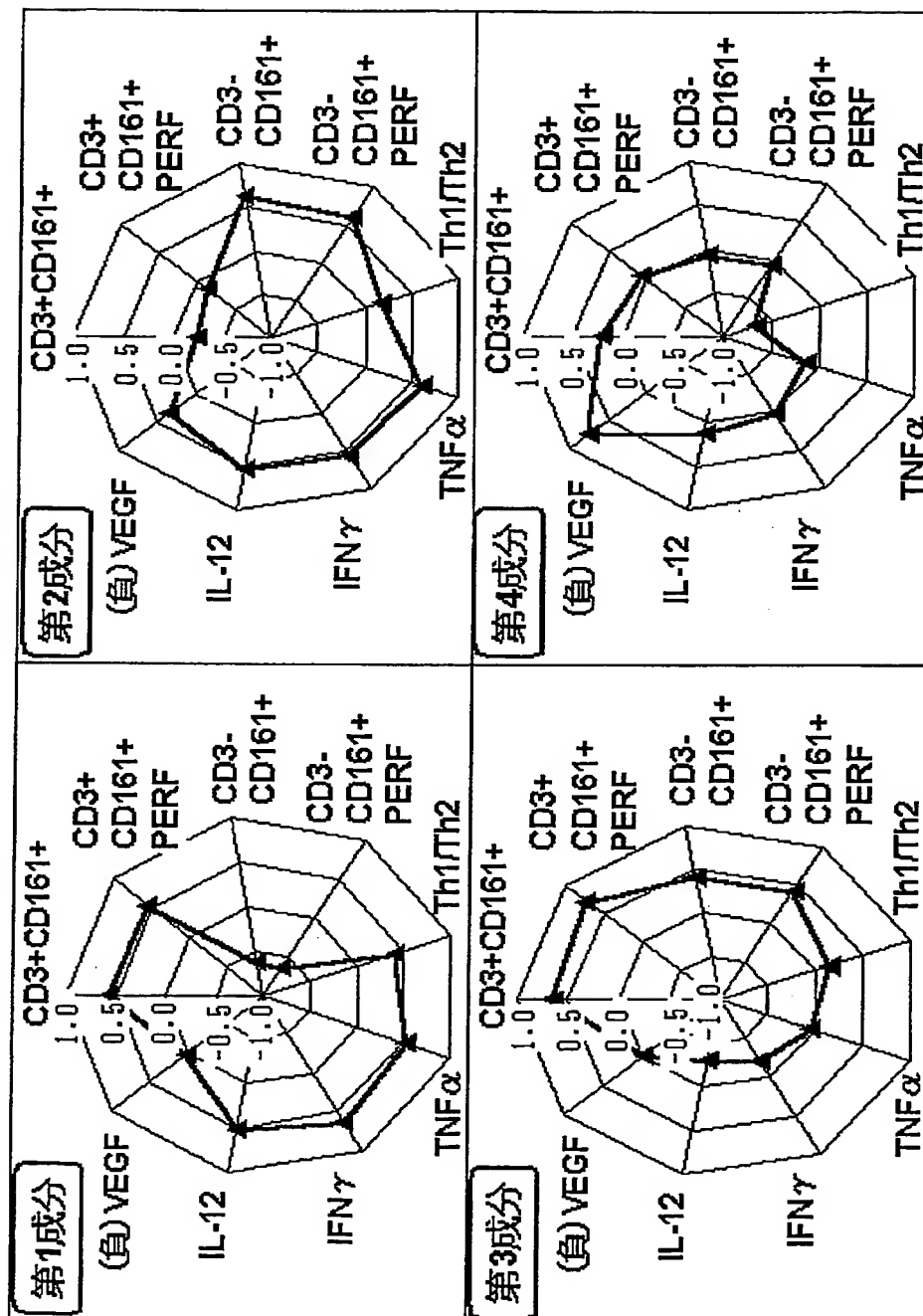
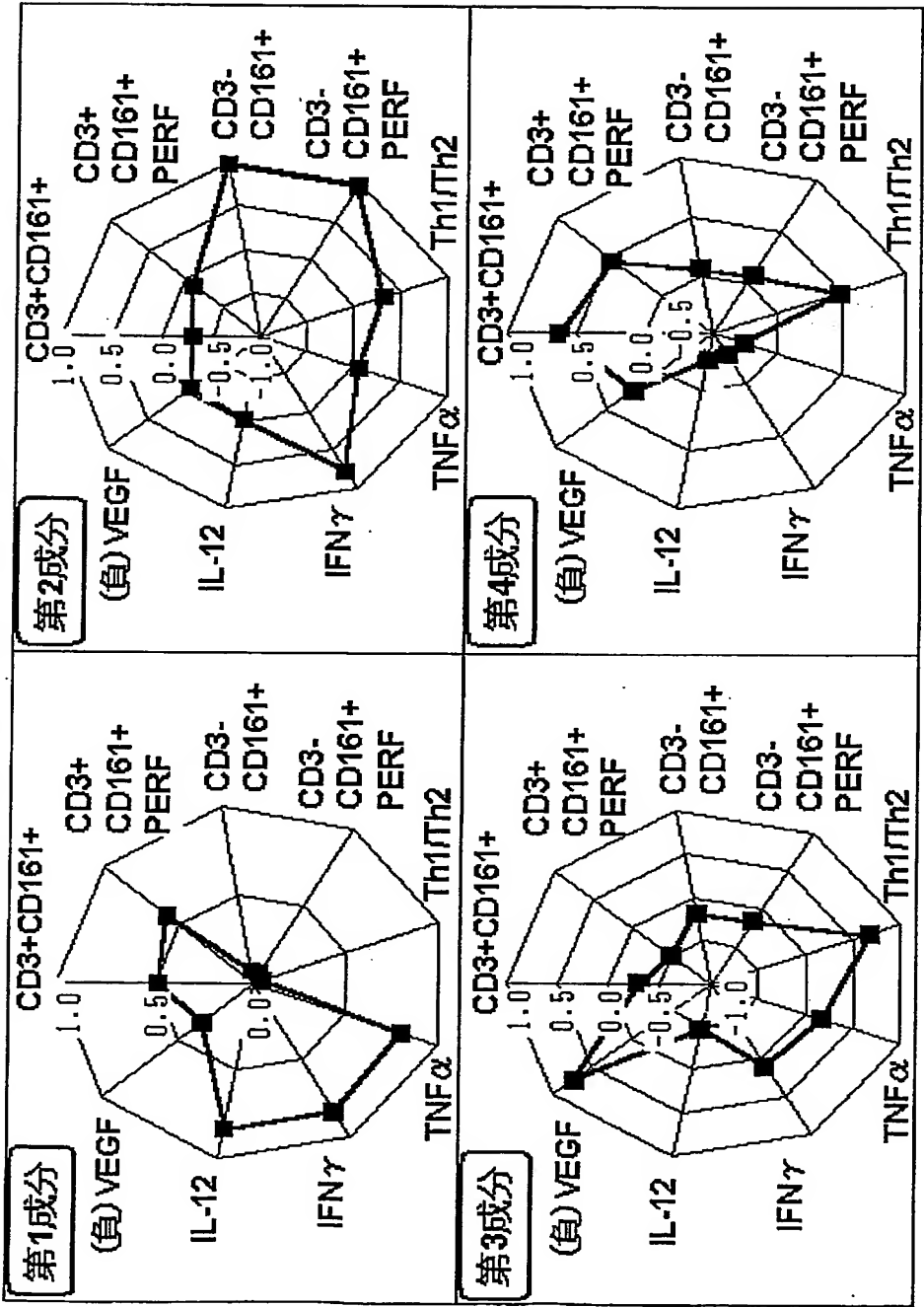


図 1 2

主成分分析(前立腺癌)



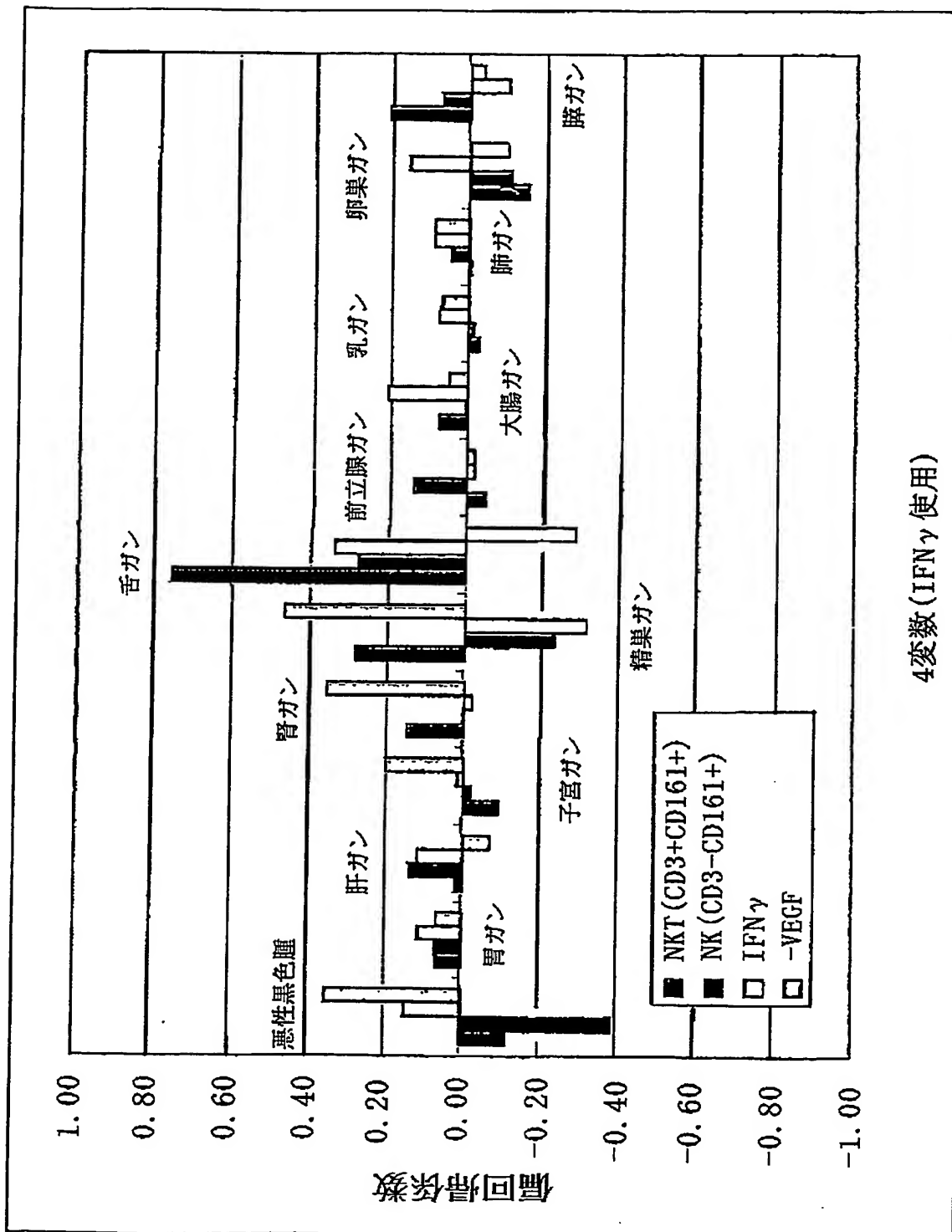
14/17

図 1 3

4変数 (NK, NKT, INF, $\gamma$  VEGF )

	NKT (CD3+CD161+)	NK (CD3-CD161+)	IFN $\gamma$	-VEGF
悪性黒色腫	-0.12	-0.39	0.15	0.35
胃ガン	0.07	0.07	0.12	0.07
肝ガン	0.02	0.14	0.12	-0.07
子宮ガン	-0.09	-0.02	0.02	0.20
腎ガン	0.15	0.00	-0.02	0.36
精巣ガン	0.29	-0.23	-0.32	0.47
舌ガン	0.76	0.28	0.34	-0.28
前立腺ガン	-0.05	0.14	-0.02	-0.02
大腸ガン	0.08	0.01	0.21	0.05
乳ガン	-0.03	-0.01	0.08	0.07
肺ガン	-0.01	0.04	0.09	0.09
卵巣ガン	-0.15	-0.11	0.16	-0.10
脾ガン	0.21	0.07	-0.10	-0.04

図 13-2



16/17

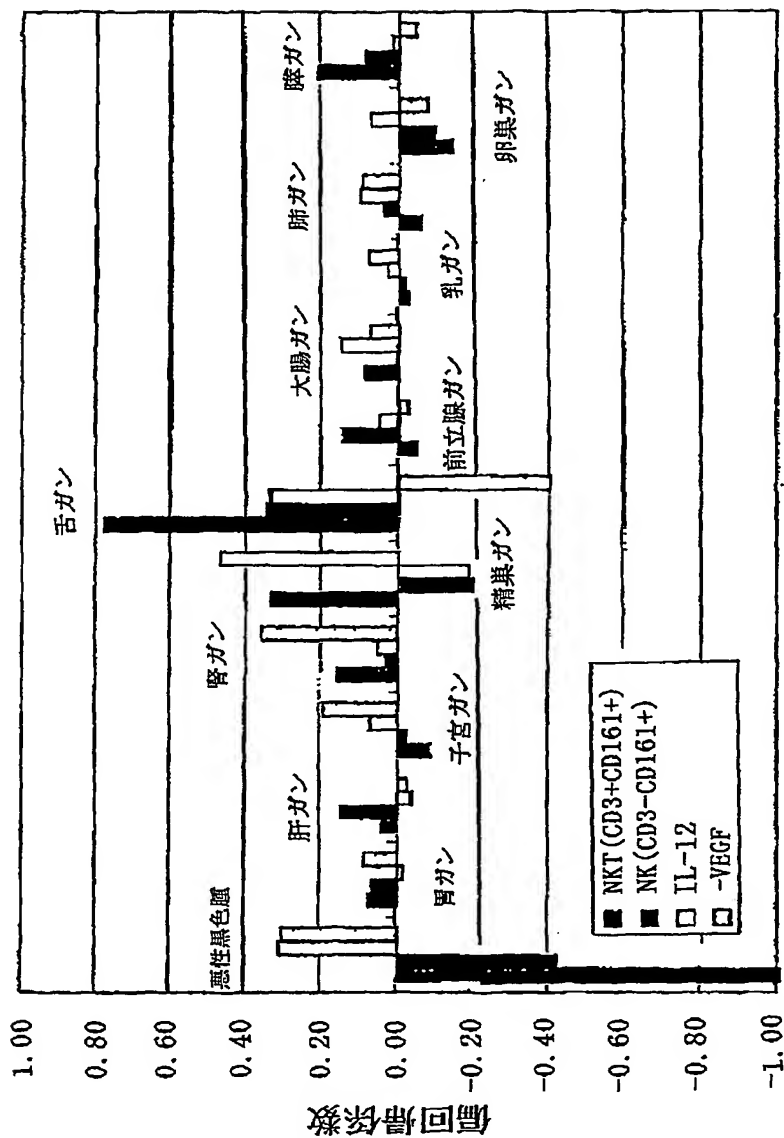
図 1 4

4変数 (NK, NKT, IL-12, VEGF )

	NKT (CD3+CD161+)	NK (CD3-CD161+)	IL-12	-VEGF
悪性黒色腫	-1.76	-0.42	0.31	0.30
胃ガン	0.08	0.06	-0.02	0.09
肝ガン	0.04	0.14	-0.04	-0.03
子宮ガン	-0.09	-0.03	0.07	0.19
腎ガン	0.16	0.03	0.05	0.36
精巣ガン	0.33	-0.19	-0.19	0.47
舌ガン	0.78	0.35	0.33	-0.41
前立腺ガン	-0.05	0.14	0.05	-0.03
大腸ガン	0.09	0.00	0.15	0.07
乳ガン	-0.02	-0.02	0.03	0.08
肺ガン	-0.06	0.04	0.10	0.10
卵巣ガン	-0.14	-0.10	0.07	-0.08
膵ガン	0.21	0.09	0.02	-0.05



図 14-2



4変数(IL-12使用)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10446

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, A61P35/00, G01N33/50, G06F17/30//A61K31/715, 35/60

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, A61P35/00, G01N33/50, G06F17/30//A61K31/715, 35/60

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), CANCERLIT (STN), JICST (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/70251 A1 (Orient Cancer Therapy Co., Ltd.), 27 September, 2001 (27.09.01), Particularly, Abstract; Claims; page 5, lines 13 to 20; page 7, line 21 to page 8, line 2; page 10, line 25 to page 14, line 25; clinical examples 1-8; tables 4-11 & EP 1266661 A1 & JP 2001-335507 A & AU 2001042761 A5	1-16, 19, 20
X	Akikuni YAGITA et al., "Shinsei Kekkan Sogaizai to Naiinsei IL-12 to o Mochiita Shinmen'eki Ryoho - particularly, NKT Saibo no Kan'yo ni tsuite - Biotherapy, 2000 Nen, Vol.14, No.5, pages 433 to 439; particularly, Summary; table 1; Figs. 1, 3; pages 437, right column, line 9 to page 438, right column, line 26 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publi- shers B.V. (The Netherlands) No.2000242817	1-16, 19, 20

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing  
date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means

"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
20 December, 2002 (20.12.02)

Date of mailing of the international search report  
14 January, 2003 (14.01.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10446

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Akikuni YAGITA et al., "Natural IL-12 Yukizai no Kakushu Shinkogan ni Taisuru Sayo", Biotherapy, 2000 Nen, Vol.14, No.1, pages 33 to 37; particularly, Summary; Fig. 2; table 1 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B.V. (The Netherlands) No.2000064223	1-16, 19, 20
X	Akikuni YAGITA et al., "Shinmen'eki Ryoho (Kasho) (Novel Immunotherapy for cancer; NITC) ni okeru Kekkan Shinsei Sogaizai no Yakuwari", Biotherapy, 2000 Nen, Vol.14, No.10, pages 973 to 981; particularly, Summary; page 981, right column, line 1 to page 982, right column, line 17 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B.V. (The Netherlands) No.2000429146	1-16, 19, 20
X	Shoji MARUYAMA et al., "Shinko Daichogan ni Okeru Shinmen'eki Ryoho no Yukosei", Biotherapy, 2000 Nen, Vol.14, No.5, pages 460 to 463; Particularly, Summary; pages 461, left column, line 17 to right column, line 7 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B.V. (The Netherlands) No.2000242822	1-16, 19, 20
X	Shoji MARUYAMA et al., "Shinko Igan ni okeru Shinmen'eki Ryoho no Yukosei", Biotherapy, 1999 Nen, No.36, pages 59 to 62; particularly, summary; page 59, right column, line 3 to page 61, right column, line 13	1-16, 19, 20
X	Shoji MARUYAMA et al., "Shinko Daichogan ni okeru Shinmen'eki Ryoho no Yukosei", Biotherapy, 2001 May, Vol.14, No.1, pages 48 to 50; particularly, Summary; page 49, left column, line 15 to page 50, left column, line 9 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B.V. (The Netherlands) No.2000064228	1-16, 19, 20
X	Akikuni YAGITA et al., "Shinmen'eki Ryoho (NITC) ni okeru NKT-Saibo no Yakuwari", Biotherapy, 2001 May, Vol.15, No.3, page 403	1-16, 19, 20
X	Akikuni YAGITA et al., "Human natural (Hn) IL-12 inducer o Mochiita Shinmen'eki Ryoho, Biotherapy, 1999, Vol.13, No.1, page 124	1-16, 19, 20
X	Akikuni YAGITA et al., "IL-12 Yuki Busshitsu no AHCC to Kekkan Shinsei Sogaizai to o Mochiita BRM Ryoho no Kisoteki-Rinshoteki Kento", Biotherapy, 1998 Nen, Vol.12, No.1, page 38	1-16, 19, 20

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

**International application No.**

PCT/JP02/10446

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 844002 A1 (Yagita Akikuni), 27 May, 1998 (27.05.98), Full text & US 2002/055489 A1 & US 2002/064522 A1 & JP 10-139670 A & JP 2001-081047 A	1-16,19,20
X	JP 2001-33460 A (Yagita Akikuni), 09 February, 2001 (09.02.01), Particularly, examples (Family: none)	1-16,19,20
X	JP 10-147534 A (Seishin Enterprise Co., Ltd.), 02 June, 1998 (02.06.98), Particularly, Par. No. [0060] & JP 3103513 B & JP 2001-48795 A & CN 1185319 A	1-16,19,20
X	JP 2001-48795 A (Seishin Enterprise Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.01), Particularly, Par. No. [0060] & JP 10-147534 A & JP 3103513 B & CN 1185319 A	1-16,19,20
X	WO 01/82935 A1 (Orient Cancer Therapy Co., Ltd.), 08 November, 2001 (08.11.01), Particularly, Abstract; Claims; clinical examples 1-20 & US 2002/010149 A1 & US 6464981 B2 & JP 2002-3403 A & AU 2001052599 A5	1-16,19,20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10446

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 17, 18

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 17 and 18 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
(See extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

The present application has the following 18 groups of inventions.

1. Claims 1 to 4, 6, 9 to 16, 19 and 20: remedies for scirrhus gastric cancer and a method of screening the same.
2. Claims 1 to 4, 6, 9 to 16, 19 and 20: remedies for non-scirrhus gastric cancer and a method of screening the same.
3. Claims 1 to 4, 7 to 16, 19 and 20: remedies for colon cancer and a method of screening the same.
4. Claims 1 to 4, 8 to 16, 19 and 20: remedies for prostatic cancer and a method of screening the same.
5. Claims 1 to 4, 7 to 16, 19 and 20: remedies for breast cancer and a method of screening the same.
6. Claims 1 to 5, 9 to 16, 19 and 20: remedies for lung cancer and a method of screening the same.
7. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for lung squamous cancer and a method of screening the same.
8. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for lung small-cell cancer and a method of screening the same.
9. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for lung large-cell cancer and a method of screening the same.
10. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for lung adenocarcinoma and a method of screening the same.
11. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for malignant melanoma and a method of screening the same.
12. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for liver cancer and a method of screening the same.
13. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for uterine cancer and a method of screening the same.
14. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for uterine cancer and a method of screening the same.
15. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for kidney cancer and a method of screening the same.
16. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for tongue cancer and a method of screening the same.
17. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for ovarian cancer and a method of screening the same.
18. Claims 1 to 4, 9 to 16, 19 and 20: remedies for pancreas cancer and a method of screening the same.

Since the technical features of the groups 1 to 18 respectively reside in combinations of markers different from each other, they have no single general inventive concept in common.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> A61K45/00, A61P35/00, G01N33/50, G06F17/30 // A61K31/715, 35/60

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> A61K45/00, A61P35/00, G01N33/50, G06F17/30 // A61K31/715, 35/60

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), MEDLINE(STN), EMBASE(STN), BIOSIS(STN), CANCERLIT(STN), JICST(JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 01/70251 A1(株式会社オリエントキャンサーセラピー)2001.09.27., 特に、Abstract, 請求の範囲、第5 <sup>ページ</sup> 13-20行、第7 <sup>ページ</sup> 第21行-第8 <sup>ページ</sup> 第2行、第10 <sup>ページ</sup> 第25行-第14 <sup>ページ</sup> 第25行、臨床例1-8、表4-11 & EP 1266661 A1 & JP 2001-335507 A & AU 2001042761 A5	1-16, 19, 20

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20.12.02

国際調査報告の発送日

14.01.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区般が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

渡辺 下 浩一



4C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	八木田 旭邦 等、新生血管阻害剤と内因性IL-12とを用いた新免疫療法—特にNK T細胞の関与について—、Biotherapy、2000年、第14巻、第5号、第433-439 <sup>ページ</sup> 、特に、Summary、表1、図1、3、第437 <sup>ページ</sup> —右欄第9行—第438 <sup>ページ</sup> —右欄第26行 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B. V.(The Netherlands)No.2000242817	1-16, 19, 20
X	八木田 旭邦 等、Natural IL-12誘起剤の各種進行癌に対する作用、Biotherapy、2000年、第14巻、第1号、第33-37 <sup>ページ</sup> 、特に、Summary、図2、表1 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B. V.(The Netherlands)No.2000064223	1-16, 19, 20
X	八木田 旭邦 等、新免疫療法（仮称）（Novel Immunotherapy for cancer: NITC）における血管新生阻害剤の役割、Biotherapy、2000年、第14巻、第10号、第973-981 <sup>ページ</sup> 、特に、Summary、第981 <sup>ページ</sup> —右欄第1行—第982 <sup>ページ</sup> —右欄第17行 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B. V.(The Netherlands)No.2000429146	1-16, 19, 20
X	丸山 正二 等、進行大腸癌における新免疫療法の有効性、Biotherapy、2000年、第14巻、第5号、第460-463 <sup>ページ</sup> 、特に、Summary、第461 <sup>ページ</sup> —左欄第17—右欄第7行 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B. V.(The Netherlands)No.2000242822	1-16, 19, 20
X	丸山 正二 等、進行胃癌における新免疫療法の有効性、Biotherapy、1999年、第36号、第59-62 <sup>ページ</sup> 、特に、要旨、第59 <sup>ページ</sup> —右欄第3行—第61 <sup>ページ</sup> —右欄第13行	1-16, 19, 20
X	丸山 正二 等、進行大腸癌における新免疫療法の有効性、Biotherapy、2001年5月、第14巻、第1号、第48-50 <sup>ページ</sup> 、特に、Summary、第49 <sup>ページ</sup> —左欄第15—第50 <sup>ページ</sup> —左欄第9行 & Database EMBASE on STN, Elsevier Science Publishers B. V.(The Netherlands)No.2000064228	1-16, 19, 20
X	八木田 旭邦 等、新免疫療法（NITC）におけるNK T細胞の役割、Biotherapy、2001年5月、第15巻、第3号、第403 <sup>ページ</sup>	1-16, 19, 20
X	八木田 旭邦 等、Human natural (Hn) IL-12 inducerを用いた新免疫療法、Biotherapy、1999年、第13巻、第1号、第124 <sup>ページ</sup>	1-16, 19, 20
X	八木田 旭邦 等、IL-12有機物質のAHCCと血管新生阻害剤とを用いたBRM療法の基礎的・臨床的検討、Biotherapy、1998年、第12巻、第1号、第38 <sup>ページ</sup>	1-16, 19, 20



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP 844002 A1(Yagita Akikuni)1998.05.27 文献全体 & US 2002/055489 A1 & US 2002/064522 A1 & JP 10-139670 A & JP 2001-081047 A	1-16, 19, 20
X	JP 2001-33460 A(八木田旭邦)2001.02.09 特に、【実施例】 (ファミリーなし)	1-16, 19, 20
X	JP 10-147534 A(株式会社セイシン企業)1998.06.02 特に、【0060】 & JP 3103513 B & JP 2001-48795 A & CN 1185319 A	1-16, 19, 20
X	JP 2001-48795 A(株式会社セイシン企業)2001.02.20 特に、【0060】 & JP 10-147534 A & JP 3103513 B & CN 1185319 A	1-16, 19, 20
X	WO 01/82935 A1(株式会社オリエントキャンサーセラピー) 2001.11.08 特に、Abstract, 請求の範囲、臨床例1-20 & US 2002/010149 A1 & US 6464981 B2 & JP 2002-3403 A & AU 2001052599 A5	1-16, 19, 20

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 17, 18 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲17, 18は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

## 別紙参照

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## 第II欄の続き

この出願には下記の18個の発明群がある。

1. 請求の範囲1-4, 6, 9-16, 19, 20  
スキルス胃ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
2. 請求の範囲1-4, 6, 9-16, 19, 20  
非スキルス胃ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
3. 請求の範囲1-4, 7-16, 19, 20  
大腸ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
4. 請求の範囲1-4, 8-16, 19, 20  
前立腺ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
5. 請求の範囲1-4, 7-16, 19, 20  
乳ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
6. 請求の範囲1-5, 9-16, 19, 20  
肺ガンの治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
7. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
肺扁平上皮ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
8. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
肺小細胞ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
9. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
肺大細胞ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
10. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
肺腺ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
11. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
悪性黒色腫治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
12. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
肝ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
13. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
子宮ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
14. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
子宮ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
15. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
腎ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
16. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
舌ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
17. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
卵巣ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。
18. 請求の範囲1-4, 9-16, 19, 20  
膀胱ガン治療剤、該治療剤のスクリーニング方法。

1~18は、互いに、異なったマーカーの組み合わせを技術的特徴としているから、共通する単一の一般的発明概念は存在しない。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**